

РУКОВОДСТВО ПО ЭКСПЛУАТАЦИИ
Секвенатор нуклеиновых кислот «Геноскан 4000»
по ТУ 26.51.53-004-95224908-2020

СОДЕРЖАНИЕ

1 ОПИСАНИЕ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ	4
1.1 Наименование медицинского изделия	4
1.2 Производитель	4
1.3 Назначение (функциональное назначение)	4
1.4 Медицинские изделия, применяемые в комбинации с секвенатором	4
1.5 Тип анализируемого образца (первичной пробы)	4
1.6 Целевой анализ	4
1.7 Подготовка библиотек	5
1.8 Показания и противопоказания к применению	5
1.9 Область применения	5
1.10 Потенциальный потребитель	5
1.11 Возможные побочные явления и опасности для пациента и персонала	5
1.12 Классификация секвенатора	5
1.13 Принцип действия	6
2 ОГРАНИЧЕНИЯ ПО ИСПОЛЬЗОВАНИЮ СЕКВЕНАТОРА	6
2.1 Ограничения по использованию секвенатора	6
2.2 Интерферирующие вещества	7
3 КОМПЛЕКТАЦИЯ СЕКВЕНАТОРА	7
4 ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ, ТЕХНИЧЕСКИЕ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ СЕКВЕНАТОРА	8
4.1 Диагностические характеристики секвенатора	8
4.2 Технические характеристики секвенатора	8
4.3 Функциональные характеристики	10
5 ВНЕШНИЙ ВИД СЕКВЕНАТОРА	10
5.1 Передняя панель секвенатора	11
5.2 Левая и правая панели секвенатора	12
5.3 Задняя панель секвенатора	12
5.4 Отсек для проточных ячеек для секвенирования	13
5.5 Панель подключения секвенатора	14
5.6 Зона индикации состояния	14
5.7 Камера с охлаждением	15
5.8 Рабочая станция секвенатора	16
5.9 Главный интерфейс программного обеспечения	17
5.10 Внешний вид и характеристики компонентов стартового набора	18
6 ОБОРУДОВАНИЕ, РЕАГЕНТЫ И РАСХОДНЫЕ МАТЕРИАЛЫ, НЕ ВХОДЯЩИЕ В КОМПЛЕКТ ПОСТАВКИ.	19
6.1 Оборудование, не входящее в комплект поставки	19
6.2 Материалы, не входящие в комплект поставки	19
6.3 Растворы, не входящие в комплект поставки	20
7 ТРЕБОВАНИЯ БЕЗОПАСНОСТИ	20
7.1 Требования к транспортированию и хранению до ввода в эксплуатацию	20
7.2 Требования к установке	20
7.3 Требования к выделяемому пространству	21
7.4 Требования электробезопасности	21
7.5 Требования к эксплуатационной среде	22
7.6 Требования охраны окружающей среды	22
7.7 Требования по безопасности оператора	22
8 ПРОВЕДЕНИЕ СЕКВЕНИРОВАНИЯ	23
8.1 Работа с компонентами стартового набора	23
8.1.1 Подготовка картриджа	23
8.1.2 Подготовка проточной ячейки	24
8.1.3 Разведение и денатурация пула библиотек перед секвенированием	25

8.2	Запуск и настройка секвенатора	26
8.2.1	Включение секвенатора	26
8.2.2	Выполнение промывки перед запуском	27
8.2.3	Очистка отсека для жидких отходов	28
8.2.4	Очистка платформы проточной ячейки	28
8.2.5	Редактирование информационного листа анализа	29
8.2.6	Загрузка пула библиотек ДНК в картридж	30
8.2.7	Режимы запуска секвенирования	30
8.2.8	Промывка после запуска	37
8.3	Промывки прибора (типы и последовательность)	38
8.3.1	Подготовка раствора для промывки	38
8.3.2	Подготовка промывочных картриджей и промывочной проточной ячейки	39
8.3.3	Режимы промывки	39
8.3.4	Запуск промывки	39
8.4	Представление результатов секвенирования	41
8.4.1	Структура выходной папки секвенирования	41
8.4.2	Краткое описание папки результатов	42
8.4.3	Автоматическая загрузка результатов секвенирования	44
8.5	Другие настройки	44
8.5.1	Выбор языка	44
8.5.2	Справка	45
8.6	Завершение работы системы	45
9	РЕМОНТ И ОБСЛУЖИВАНИЕ СЕКВЕНАТОРА	46
9.1	Требования по периодичности обслуживания	46
9.2	Обслуживание системы подачи жидкости прибора	47
9.3	Обслуживание камеры с охлаждением	47
9.4	Обслуживание зажима проточной ячейки	47
9.5	Обслуживание блока секвенирования и блока питания	47
9.6	Обслуживание отсека для жидких отходов	47
9.7	Диагностика прибора	48
10	РЕШЕНИЯ ПО УСТРАНЕНИЮ ТИПИЧНЫХ НАРУШЕНИЙ В РАБОТЕ ПРИБОРА	48
10.1	Проблемы при запуске прибора	49
10.2	Проблемы при работе прибора	49
10.3	Типичные проблемы при эксплуатации	50
10.4	Решения по устранению типичных проблем	50
11	ТРЕБОВАНИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ, ЭКСПЛУАТАЦИИ И УТИЛИЗАЦИИ	51
11.1	Требования хранения и транспортирования секвенатора до ввода в эксплуатацию	51
11.2	Требования к эксплуатации секвенатора	51
11.3	Требования утилизации секвенатора	51
11.4	Требования хранения компонентов стартового набора	51
11.5	Требования транспортирования компонентов стартового набора	52
11.6	Требования к эксплуатации компонентов стартового набора	52
11.7	Требования утилизации компонентов стартового набора	52
12	ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ	52
	Приложение А Структура библиотеки для секвенирования	54
	Приложение Б Индексные последовательности, совместимые с секвенатором	55
	Приложение В Структура FASTQ файла	56
	Приложение Г Символы и обозначения	57
	Приложение Д Перечень ссылочных нормативных документов	58

1 ОПИСАНИЕ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ

1.1 Наименование медицинского изделия

Секвенатор нуклеиновых кислот «Геноскан 4000» по ТУ 26.51.53-004-95224908-2020 (далее по тексту – секвенатор).

1.2 Производитель

ООО «Сесана»: 105005, Россия г. Москва, Бауманская улица, д. 50/12 стр. 1.
Тел.: +7 (495) 128-82-74. E-mail: mail@sesana.ru

1.3 Назначение (функциональное назначение)

Секвенатор предназначен для определения последовательности нуклеотидов дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) образцов человека методом секвенирования нового поколения (next-generation sequencing (NGS).

Секвенатор является вспомогательным медицинским изделием для диагностики in vitro, которое предназначено для использования в комбинации с другими медицинскими изделиями (наборами реагентов), применяемыми для определения специфического анализа в определенном клиническом образце.

Тип образца для секвенирования определяется медицинскими изделиями, которые используются в комбинации с секвенатором.

1.4 Медицинские изделия, применяемые в комбинации с секвенатором

В комбинации с секвенатором должны применяться медицинские изделия (наборы реагентов), обеспечивающие получение библиотек ДНК с характеристиками, указанными в приложении А, и валидированные для применения совместно с секвенатором (например, «Набор реагентов для выявления анеуплоидий в геноме человека методом высокопроизводительного секвенирования «МИКРОСКРИН» по ТУ 21.20.23-003-95224908-2020», производства ООО «Сесана», Россия, регистрационное удостоверение – РЗН 2024/22763). Наборы реагентов должны иметь в своем составе программное обеспечение для анализа информации, полученной с помощью секвенатора (файлы формата *.fastq.gz), с целью оценки параметров соответствующего анализа в биологическом образце. Также возможно использование самостоятельного программного обеспечения, являющегося медицинским изделием, для анализа полученных данных. Секвенатор должен обеспечивать функциональные и диагностические характеристики медицинского изделия (набора реагентов), в комбинации с которым он используется.

1.5 Тип анализируемого образца (первичной пробы)

Тип анализируемого образца (отдельной порции биологической жидкости или ткани, взятой для исследования, изучения или анализа одной или нескольких величин или характеристик), из которого приготовлена библиотека ДНК, определяется основным медицинским изделием (набором реагентов), используемым в комбинации с секвенатором.

1.6 Целевой анализ

Целевым анализом (компонент пробы с измеримым свойством) является библиотека ДНК, полученная из биологического материала человека, которая представляет собой смесь множества олигонуклеотидных фрагментов длиной от 30 до 300 нуклеотидов, соответствующих целевым участкам ДНК анализируемого образца.

Целевой анализ определяется основным медицинским изделием (набором реагентов), используемым в комбинации с секвенатором.

1.7 Подготовка библиотек

Этапы приготовления библиотек могут включать:

- ♦ выделение из анализируемого образца и очистку ДНК методами, рекомендованными в эксплуатационной документации на основное медицинское изделие (набор реагентов);
- ♦ фрагментацию (при необходимости);
- ♦ лигирование адаптеров и индексов;
- ♦ ПЦР амплификацию (при необходимости);
- ♦ очистку, измерение концентрации полученных библиотек ДНК;
- ♦ определение размера полученных библиотек ДНК;
- ♦ нормализацию библиотек ДНК (разведение или концентрирование до заданных параметров).

Вне зависимости от исходного анализата или вида биологического образца, библиотека ДНК должна иметь структуру, указанную в приложении А руководства по эксплуатации. Для корректной работы секвенатора необходима библиотека ДНК с концентрацией не менее 20 нг/мкл и объемом не менее 10 мкл.

1.8 Показания и противопоказания к применению

Показания и противопоказания к применению секвенатора в отношении специфического расстройства, состояния или фактора риска определяются и ограничиваются основным медицинским изделием (набором реагентов), предназначенным для использования в комбинации с секвенатором.

1.9 Область применения

Секвенатор применяется в клинической лабораторной диагностике и лабораторной генетике для обследования всех групп пациентов без градации по демографическому или популяционному признаку.

1.10 Потенциальный потребитель

Квалифицированный персонал клиничко-диагностической лаборатории с медицинским, биохимическим и/или биологическим образованием, который владеет методами молекулярной диагностики - врачи клинической лабораторной диагностики, медицинский лабораторный техник (фельдшер-лаборант), другие сотрудники лабораторий, прошедшие обучение работе с секвенатором.

1.11 Возможные побочные явления и опасности для пациента и персонала

Возможные побочные явления для пациента отсутствуют, т.к. изделие не контактирует с пациентом. При работе специально обученного персонала в соответствии с руководством по эксплуатации и соблюдении требований безопасности, описанных в п. 7 руководства по эксплуатации, побочные явления и другие виды опасности для персонала, использующего секвенатор, отсутствуют.

1.12 Классификация секвенатора

В соответствии с Номенклатурной классификации медицинских изделий, утвержденной Приказом Минздрава России № 4н:

Класс потенциального риска секвенатора – 2а.

Класс безопасности программного обеспечения, установленного на системе, в соответствии с ГОСТ IEC 62304, определен как класс «А» (Невозможны никакие травмы или ущерб здоровью).

Код Общероссийского классификатора продукции по видам экономической деятельности 26.51.53.141.

Вид медицинского изделия 332060 (Секвенатор нуклеиновых кислот ИВД, секвенирование нового поколения).

1.13 Принцип действия

В основе метода лежит принцип секвенирования путем синтеза – sequencing by synthesis (SBS). Олигонуклеотиды из библиотеки ДНК комплементарно адаптерам гибридизуются со специфическими зондами, зафиксированными на внутренней поверхности проточной ячейки, с последующим образованием молекулярного кластера одноцепочечных олигонуклеотидов путем амплификации на месте гибридизации. Каждый кластер представляет собой зафиксированные на матрице олигонуклеотиды, идентичные исходному нуклеотиду, зафиксированному на матрице. Затем каждый одноцепочечный нуклеотид в кластере по принципу комплементарности циклично достраивается до двухцепочечного с использованием флуоресцентно-меченых нуклеотидов в ходе полимеразной цепной реакции. В каждом цикле секвенирования происходит добавление во вторую цепочку одного нуклеотида со специфичной флуоресцентной меткой с помощью реагентов, попадающих по каналам секвенатора в проточную ячейку. Встраивание каждого нового нуклеотида в олигонуклеотиды каждого кластера регистрируется с помощью оптического детектора в каждом цикле секвенирования. Сигналы каждого цикла обрабатываются и анализируются, в результате получается информация о нуклеотидной последовательности для каждого олигонуклеотида ДНК из библиотеки ДНК, зафиксированного на внутренней поверхности проточной ячейки. Эта информация записывается в файл формата *.fastq.gz, структура которого приведена в Приложении В.

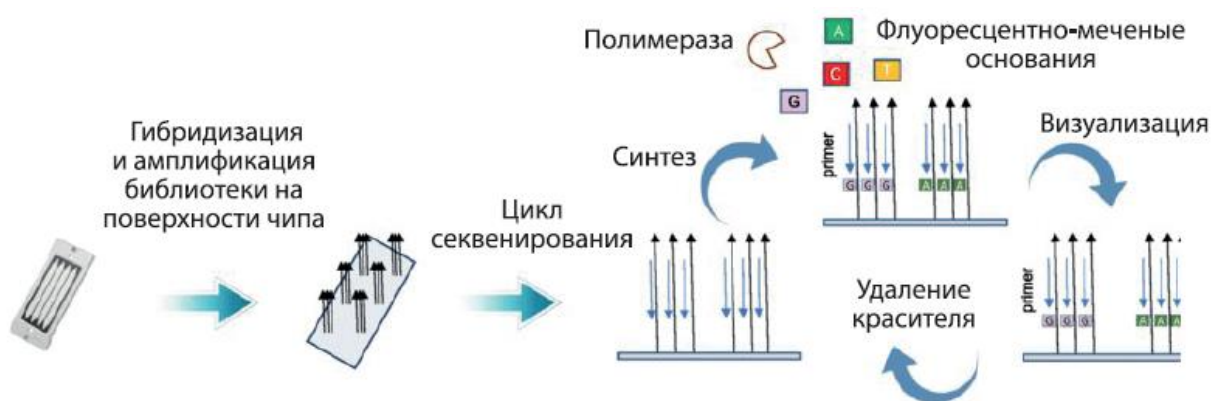


Рисунок 1. Принцип действия секвенатора

2 ОГРАНИЧЕНИЯ ПО ИСПОЛЬЗОВАНИЮ СЕКВЕНАТОРА

2.1 Ограничения по использованию секвенатора

Секвенатор необходимо применять строго по назначению.

Секвенатор не предназначен для прямого определения специфического анализатора из биологического образца (пробы).

Секвенатор не предназначен для секвенирования de novo.

Секвенатор может быть использован только в комбинации с другим медицинским изделием (набором реагентов).

Анализируемая библиотека ДНК должна иметь структуру, указанную в Приложении А, при этом индексные последовательности образцов должны соответствовать Приложению Б. Использование библиотек ДНК другой структуры не допускается.

Перед использованием прибора необходимо ознакомиться с руководством по эксплуатации и обратить внимание на требования безопасности (п. 7).

Установка и перемещение секвенатора осуществляется только квалифицированным представителем.

Запрещается работать с секвенатором, если параметры окружающей среды не соответствуют требованиям пп. 7.5.

К работе с секвенатором допускается только персонал, обученный методам молекулярной диагностики и правилам работы в клинично-диагностической лаборатории.

2.2 Интерферирующие вещества

Источниками интерферирующих веществ могут быть как вещества, содержащиеся в биологическом образце, так и вещества, которые присутствуют в лабораторных условиях или используются для пробоподготовки и сохраняются в образце при нарушении протокола.

Возможные интерферирующие вещества в биологическом образце зависят от вида биологического материала, способа его получения и преаналитических процессов. Интерферентами могут быть эндогенные (билирубин, гемоглобин, альбумин, холестерин, триглицериды и пр.) или экзогенные (лекарственные препараты, формалин, гепарин, ЭДТА и пр) вещества.

Интерферирующие вещества, содержащиеся в биологическом материале, должны устраняться на этапе пробоподготовки. Например, при выделении ДНК из крови может использоваться «Комплект реагентов для выделения ДНК по ТУ 9398-037-4642062-2009» в комплектации «ПРОБА-ГС-ГЕНЕТИКА», ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, регистрационное удостоверение – ФСР 2010/08696, или другие наборы для выделения ДНК, рекомендованные производителем основного медицинского изделия (набора реагентов). Требования к чистоте ДНК, интерферирующим веществам и пределам их возможных концентраций, а также методам выделения и очистки ДНК из анализируемого образца определяются эксплуатационной документацией на основное медицинское изделие (набор реагентов), в комбинации с которым используется секвенатор.

При приготовлении библиотек ДНК с помощью основного медицинского изделия (набора реагентов), интерферирующими веществами могут быть нуклеазы (ДНКаза I), этанол, димеры праймеров и адаптеров. Для устранения риска контаминации образца нуклеазами при подготовке библиотек ДНК необходимо использовать материалы (пробирки, наконечники), имеющие маркировку об отсутствии нуклеаз. Остаточные количества этанола, димеры праймеров и адаптеров могут быть следствием нарушения протокола. Рекомендуется строго следовать эксплуатационной документации на основное медицинское изделие при приготовлении библиотек ДНК.

3 КОМПЛЕКТАЦИЯ СЕКВЕНАТОРА

В комплект поставки секвенатора входит:

I. Секвенатор «Геноскан 4000» в составе:

- 1) Блок секвенирования – 1 шт.;
- 2) Рабочая станция – 1 шт.;
- 3) Кабель электропитания – 2 шт.;
- 4) Интернет кабель – 1 шт.;
- 5) Кабель USB 3.0 – 2 шт.;
- 6) Кабель USB 2.0 – 1 шт.;
- 7) Кабель DB62 – 1 шт.;
- 8) Кабель DVI – 1 шт.;
- 9) Мышь – 1 шт.;

- 10) Клавиатура – 1 шт.;
- 11) Сканер штрих-кодов – 1 шт.;
- 12) Кронштейн для сканера – 1 шт.
- 13) Емкость для слива жидкостей с датчиком и шлангом – 1 шт.;
- 14) Ручки для перемещения прибора на стол – 4 шт.;
- 15) Промывочный картридж – 6 шт.;
- 16) Промывочная проточная ячейка – 2 шт.;
- 17) Руководство по эксплуатации – 1 шт.;
- 18) Паспорт качества на секвенатор – 1 шт.;
- 19) Гарантийный талон – 1 шт.

II. Стартовый набор в составе:

- 1) Проточная ячейка FCM – 2 шт.;
- 2) Проточная ячейка FCH – 2 шт.;
- 3) Картридж KC75 – 1 шт.;
- 4) Картридж KC150 – 1 шт.;
- 5) Картридж KC300 – 2 шт.;
- 6) Буфер для гибридизации – 3 мл, 4 шт.;
- 7) Паспорт качества на проточную ячейку FCM – 1 шт.;
- 8) Паспорт качества на проточную ячейку FCH – 1 шт.;
- 9) Паспорт качества на картридж KC75 – 1 шт.;
- 10) Паспорт качества на картридж KC150 – 1 шт.;
- 11) Паспорт качества на картридж KC300 – 1 шт.;
- 12) Паспорт качества на буфер для гибридизации – 1 шт.

4 ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ, ТЕХНИЧЕСКИЕ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ СЕКВЕНАТОРА

4.1 Диагностические характеристики секвенатора

Секвенатор должен обеспечивать диагностические, функциональные и аналитические характеристики медицинского изделия (набора реагентов), в комбинации с которым он используется.

4.2 Технические характеристики секвенатора

Секвенатор обеспечивает установление нуклеотидной последовательности (прочтения) каждого олигонуклеотида в библиотеке ДНК, связанного с зондами проточной ячейки с помощью адаптерного участка. При этом каждый олигонуклеотид может быть прочтен как в прямом направлении (одноконцевое секвенирование), так и в прямом и обратном направлении (парноконцевое секвенирование). Все прочтения записываются в файл формата *.fastq.gz. Структура *.fastq.gz файла приведена в Приложении В.

Наименование	Параметры
Габаритные размеры блока секвенирования (ДхШхВ, мм)	1170 x 690 x 600 (±5%)
Габаритные размеры рабочей станции (ДхШхВ, мм)	175 x 470 x 445 (±5%)
Масса блока секвенирования	200 кг (±5%)
Масса рабочей станции	17 кг (±5%)
Характеристики электропитания	Входное напряжение: 100–240 В, Частота переменного тока: 50/60 Гц, Мощность переменного тока: 2000 ВА

Наименование	Параметры
Количество одновременно работающих проточных ячеек	2 шт.
Возможность независимого запуска двух ячеек (запуск второй ячейки во время текущего запуска первой ячейки)	Есть
Управление секвенатором	С помощью сенсорного экрана
Сенсорный экран	Размеры 18,5 дюйма Разрешение 1366 x 768
Характеристики рабочей станции	Процессор с тактовой частотой 2,1 ГГц Объем оперативной памяти: 192 Гб Объем дискового пространства: 1 Тб, 10 Тб
Программное обеспечение для управления секвенатором и обработки первичных данных	На рабочую станцию предустановлено ПО версии 1.0.5.11500
Длина считываемого фрагмента ДНК при чтении с одного конца	от 30 до 300 нуклеотидов
Длина считываемого фрагмента ДНК при парноконцевом чтении	от 60 до 300 нуклеотидов
Оптимальный диапазон производительности	Не менее 200 млн прочтений для ячейки FCM Не менее 450 млн прочтений для ячейки FCH
Температурный режим работы:	От 19°C до 22 °C

Производительность секвенатора (общая продолжительность запуска секвенирования и количество данных) зависят от используемой проточной ячейки и картриджа. Данные про производительности представлены в таблице.

Вид ячейки	Кол-во прочтений	Длина прочтений	Размер полученного файла, Гб	Объем данных, гигабайт	Время получения результатов, ч
FCM	не менее 200 000 000	одноконцевое, 75 оснований	не более 19	не менее 15	не более 14
		одноконцевое/ парноконцевое, 150 оснований	не более 38	не менее 30	не более 25
		одноконцевое/ парноконцевое, 300 оснований	не более 76	не менее 60	не более 44
FCH	не менее 450 000 000	одноконцевое, 75 оснований	не более 38	не менее 33,75	не более 18
		одноконцевое/ парноконцевое, 150 оснований	не более 76	не менее 67,5	не более 31

Вид ячейки	Кол-во прочтений	Длина прочтений	Размер полученного файла, ГБ	Объем данных, гигабайт	Время получения результатов, ч
		одноконцовое/ парноконцовое, 300 оснований	не более 151	не менее 135	не более 54

4.3 Функциональные характеристики

К функциональным характеристикам секвенатора относятся:

- ♦ точность секвенирования – правильность идентификации нуклеотидов для каждого олигонуклеотида из библиотеки ДНК, связанного с зондами, находящимися на проточной ячейке. Характеристиками точности секвенирования являются доля картированных прочтений и показатель качества картирования MAPQ;
- ♦ качество данных запуска – процент прочтений, полученных в ходе одного секвенирования со значением Q30*.

Показатель	Значение
Доля картированных прочтений	≥95,0%
Показатель качества картирования MAPQ	≥30
Качество данных запуска	≥80% данных со значением Q30

*Q30 – вероятность идентификации неправильного основания = 0,1%, что означает точность идентификации нуклеотида выше 99,9%.

5 ВНЕШНИЙ ВИД СЕКВЕНАТОРА

Общий внешний вид секвенатора:



Рисунок 2. Внешний вид секвенатора



Рисунок 3. Рабочая станция секвенатора

Предупреждения

- ♦ На секвенатор нанесены предупреждающие знаки, значение которых приведено в Приложении Г.

5.1 Передняя панель секвенатора



Рисунок 4. Передняя панель секвенатора

Номер	Наименование	Функция
1	Сенсорная панель	Отображает информацию, окно ввода и вывода
2	Дверца отсека для проточных ячеек	Извлечение и установка проточных ячеек
3	Индикатор состояния системы	Отображает состояние прибора
4	Дверца камеры с охлаждением	Извлечение и установка картриджа
5	Ножка	Поддержка и выравнивание прибора

5.2 Левая и правая панели секвенатора



Рисунок 5. Левая и правая панели секвенатора

Номер	Наименование	Функция
1	Шприцевые насосы	Забор жидкости из картриджей
2	Отсек контроля уровня охладителя	Наблюдение за уровнем оставшегося охладителя
3	Отверстие для отвода тепла	Для поддержания необходимой температуры прибора
4	Отверстие для отвода тепла	Для поддержания необходимой температуры прибора
5	Отверстие для отвода тепла	Для поддержания необходимой температуры прибора
6	Технологические разъемы	Связь рабочей станции и прибора

5.3 Задняя панель секвенатора

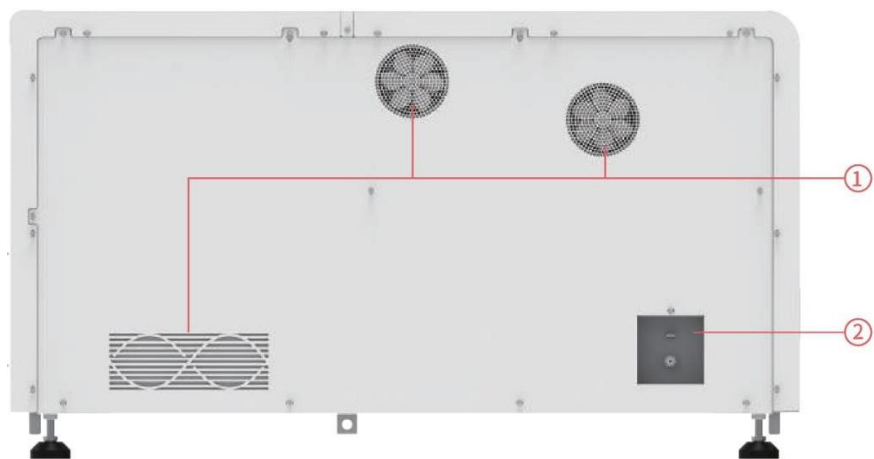


Рисунок 6. Задняя панель секвенатора

Номер	Наименование	Функция
1	Отверстие для рассеивания тепла	Рассеивание тепла из всего модуля
2	Панель для вывода отходов реагентов	Связывает емкость для отходов реагентов с датчиком жидких отходов

На задней панели секвенатора присутствует панель для вывода отходов реагентов.

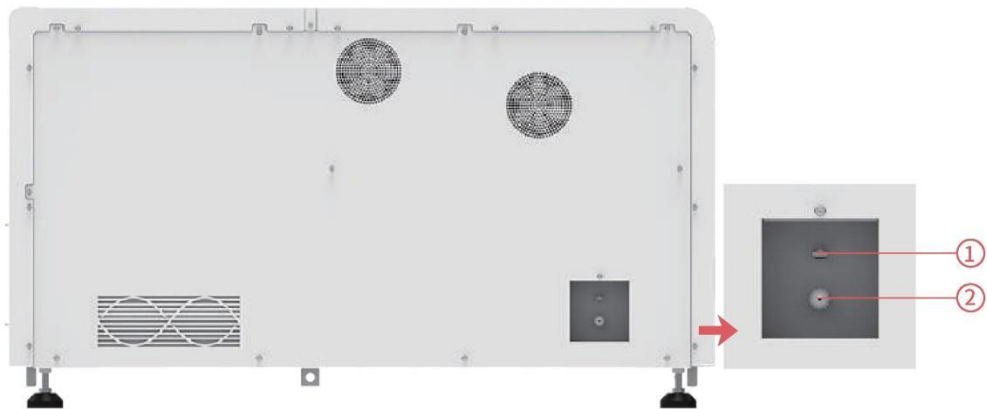


Рисунок 7. Панель для вывода отходов реагентов

Номер	Наименование	Функция
1	Разъем для датчика жидких отходов	Отслеживание состояния загрузки отсека для жидких отходов
2	Разъем слива жидких отходов	Слив жидких отходов

5.4 Отсек для проточных ячеек для секвенирования

Отсек для проточных ячеек для секвенирования находится на левой стороне прибора.



Рисунок 8. Отсек для проточных ячеек для секвенирования

Номер	Наименование	Функция
1	Дверца отсека для проточных ячеек	Открывается для установки проточных ячеек и защищает проточные ячейки в закрытом состоянии
2	Платформа проточной ячейки модуля А	Загрузка и перемещение проточной ячейки модуля А, контроль температуры проточной ячейки
3	Платформа проточной ячейки модуля В	Загрузка и перемещение проточной ячейки модуля В, контроль температуры проточной ячейки
4, 6	Зажимы проточных ячеек А и В	Удерживают проточные ячейки
5, 8	Места для загрузки проточных ячеек А и В	Фиксация и загрузка проточных ячеек; контроль температуры проточных ячеек
7, 9	Переключатели зажимов проточных ячеек А и В	При нажатии на переключатель ослабляется зажим проточной ячейки

5.5 Панель подключения секвенатора

Панель подключения содержит разъемы для подключения секвенатора к рабочей станции и для шнура электропитания.

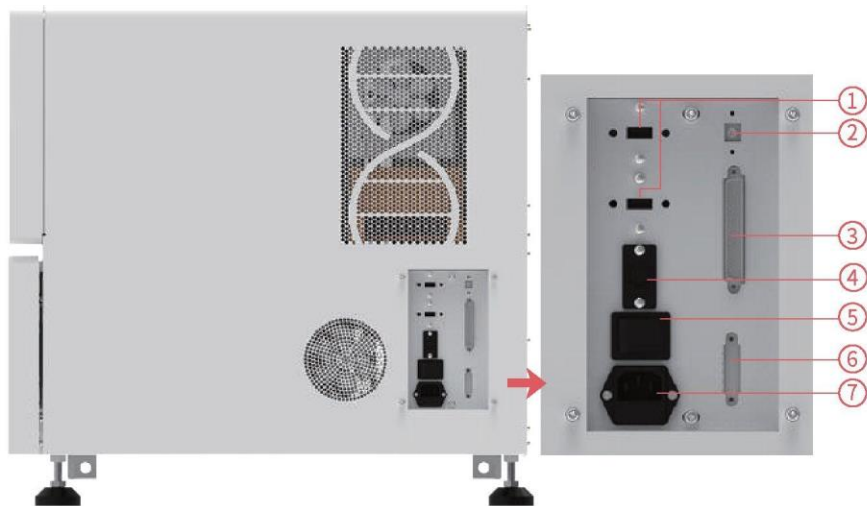


Рисунок 9. Панель подключения секвенатора

Номер	Наименование	Функция
1	Порт USB 3.0 * 2	Передача данных детекции с камер на рабочую станцию
2	Порт USB 2.0	Передача данных через USB на рабочую станцию
3	Порт DB62	Передача данных касаний сенсорного экрана секвенатора
4	Порт RJ45	Подключение по внутренней локальной сети
5	Переключатель питания прибора	Переключатель для включения и выключения питания прибора В положении «0» питание отключено В положении «I» питание включено
6	Порт DVI	Передача информации на дисплей секвенатора
7	Разъем для шнура электропитания	Подключение электропитания к прибору. Разъем для шнура электропитания имеет один предохранитель. Ниже приведена информация для управления предохранителями: Параметры: F10 A / 250 В

5.6 Зона индикации состояния

Зона индикации состояния находится в левой передней части прибора и отображает текущее состояние прибора.



Рисунок 10. Зона индикации состояния секвенатора

Номер	Наименование	Функция	Описание состояния
1	Индикатор состояния модуля А	Отображает состояние модуля секвенирования А	Синий – модуль работает нормально Зеленый – модуль находится в режиме ожидания
2	Индикатор состояния модуля В	Отображает состояние модуля секвенирования В	Желтый – появляется сообщение об аномальном состоянии модуля, но это не влияет на процесс секвенирования Красный – модуль находится в состоянии сбоя

5.7 Камера с охлаждением

Камера с охлаждением находится в правой нижней части прибора и используется для размещения картриджей и поддержания низкой температуры реагентов (от +2 до +8 °С) в процессе секвенирования.



Рисунок 11. Камера с охлаждением

Номер	Наименование	Функция
1	Картридж в модуле А	Поддержание необходимой температуры реагентов в ходе секвенирования на ячейке А
2	Картридж в модуле В	Поддержание необходимой температуры реагентов в ходе секвенирования на ячейке В
3	Дверца камеры с охлаждением	Извлечение и установка картриджа

5.8 Рабочая станция секвенатора



Рисунок 12. Рабочая станция секвенатора

Номер	Наименование	Функция
1	Переключатель питания	Включение или выключение питания рабочей станции
2	Индикатор сбоя	Индикатор загорается или мигает в состоянии аномальной работы
3	Передний USB-порт	Подключение внешнего USB-устройства

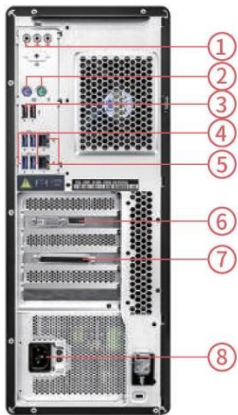


Рисунок 13. Зона управления состоянием рабочей станции секвенатора

Номер	Наименование	Функция
1	Аудио порт	Для подключения аудиоустройств
2	PS/2 порт	Для подключения мыши и клавиатуры
3	Порт USB 2.0 * 2	Подключение секвенатора по порту USB 2.0
4	Порт USB 3.0 * 4	Подключение секвенатора по порту USB 3.0
5	Порт RJ45	Подключение по внутренней локальной сети
6	Порт DVI	Передача информации на дисплей секвенатора
7	Порт DB62	Передача данных касаний сенсорного экрана секвенатора
8	Разъем для шнура электропитания	Подключение электропитания к прибору

5.9 Главный интерфейс программного обеспечения

Главный интерфейс программного обеспечения находится в правой верхней части прибора и отображает настройки параметров прибора и информацию о рабочем состоянии.

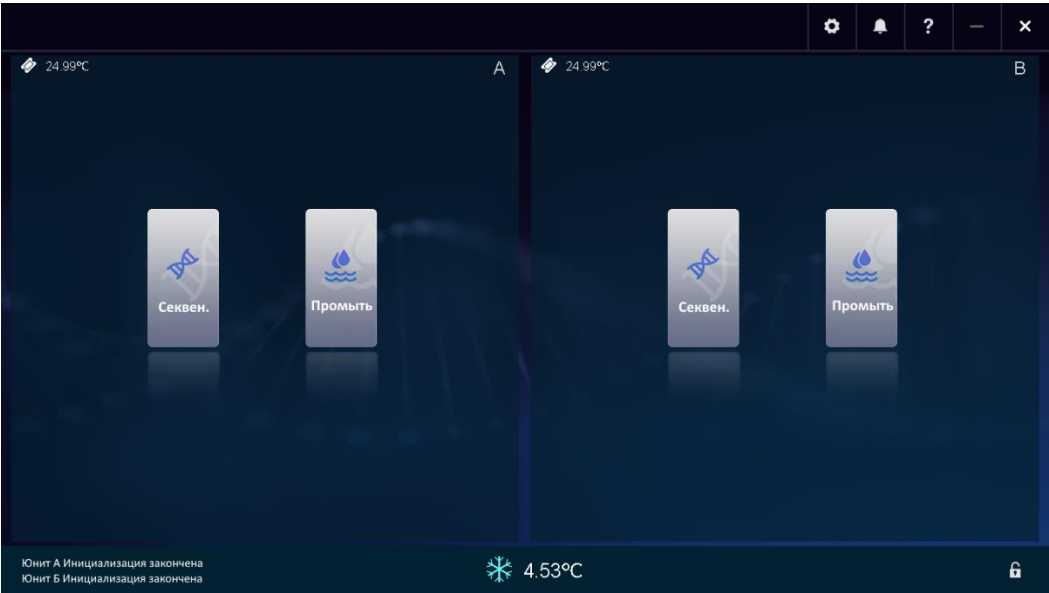


Рисунок 14. Главный интерфейс программного обеспечения секвенатора

Главный интерфейс программного обеспечения разделен на два независимых модуля (слева и справа), которые соответствуют двум независимым модулям секвенирования А и В и управляют ими.

Функциональная кнопка	Функция
Секвен. (секвенировать)	Используется для выполнения процесса секвенирования, включает внесение параметров эксперимента, загрузку проточной ячейки и картриджа для секвенирования, подтверждение параметров секвенирования, контроль состояния секвенирования и выполнение промывки после запуска
Промыть	Используется при выборе различных режимов промывки системы подачи жидкости прибора

Описание других значков на экране:



Рисунок 15. Описание значков состояния для проточной ячейки, температуры платформы проточной ячейки и картриджей

Номер	Наименование	Функция
1, 4	Статус состояния фиксации проточных ячеек на платформе	Белый неподвижный значок – все стабильно; красный мигающий значок – ячейка повреждена, сдвинута или отсутствует
2, 5	Температура платформ проточных ячеек А и В в режиме реального времени	Отображает температуры платформ проточных ячеек А и В в режиме реального времени

Номер	Наименование	Функция
3, 6	Значок отображения наличия картриджей в модулях А и В	Отображает статус установки картриджа в модулях А и В. Если картридж установлен на место, значок белый и горит постоянно. Если картридж не установлен на место, значок красный и мигает.

5.10 Внешний вид и характеристики компонентов стартового набора

Проточные ячейки FCM и FCH представляют собой пластину из темно-серого стекла, помещенную в несъемный каркас из белого полипропилена (рис. 16). В стекле расположены микрофлюидные камеры, в которых в процессе секвенирования происходит гибридизация зондов с определенными участками олигонуклеотидов библиотек ДНК и дальнейшее формирование кластеров.

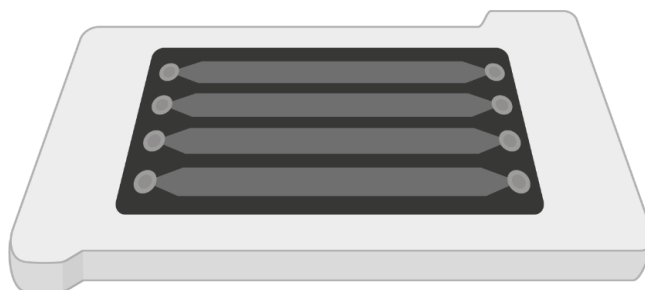


Рисунок 16. Внешний вид проточной ячейки

Проточные ячейки различаются производительностью: FCM – средняя производительность (Middle) и FCH – высокая производительность (High).

Проточная ячейка FCM позволяет получить не менее 200 млн прочтений за один запуск секвенирования.

Проточная ячейка FCH позволяет получить не менее 450 млн прочтений за один запуск секвенирования.

Картриджи KC75, KC150, KC300 представляют собой каркас с системой емкостей и каналов из полипропилена серого и белого цвета (рис. 17). Картриджи предназначены для размещения секвенируемого пула библиотек ДНК и подачи растворов в секвенатор. Все 22 лунки, кроме № 1, 2, 7 и 19, заполнены растворами для подготовки секвенатора к работе (промывки) и проведения секвенирования. Лунка №1 является пустой и предназначена для размещения пробирки с секвенируемым пулом библиотек ДНК. Лунки №2, 7 и 19 также являются пустыми.

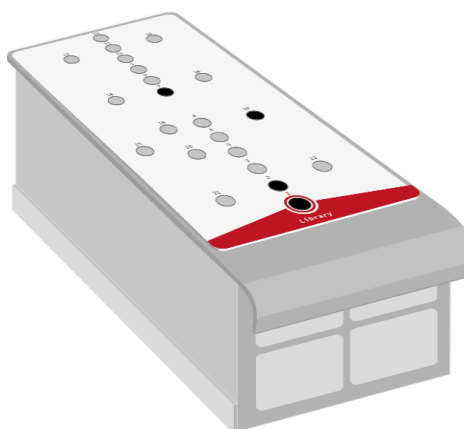


Рисунок 17. Внешний вид картриджа

Картридж KC75 предназначен для проведения 75 циклов секвенирования (позволяет определить последовательность целевого фрагмента ДНК длиной от 30 до 75 нуклеотидов).

Картридж KC150 предназначен для проведения 150 циклов секвенирования (позволяет определить последовательность целевого фрагмента ДНК длиной от 30 до 150 нуклеотидов).

Картридж KC300 предназначен для проведения 300 циклов секвенирования (позволяет определить последовательность целевого фрагмента ДНК длиной от 30 до 300 нуклеотидов).

6 ОБОРУДОВАНИЕ, РЕАГЕНТЫ И РАСХОДНЫЕ МАТЕРИАЛЫ, НЕ ВХОДЯЩИЕ В КОМПЛЕКТ ПОСТАВКИ.

6.1 Оборудование, не входящее в комплект поставки

Наименование оборудования	Функция
Источник бесперебойного питания:	
Входное напряжение: 100-240 В, Частота переменного тока: 50/60 Гц, Мощность переменного тока: 3000 ВА	Обеспечение непрерывности электропитания
Дозаторы	Подготовка пула библиотек
Вортекс	Подготовка пула библиотек
Морозильник с поддержанием температуры от -25 до -15 °С	Хранение реагентов
Холодильник с поддержанием температуры от +2 до +8 °С	Хранение реагентов
Штатив-охладитель +4 °С для пробирок объемом 1,5-2 мл	Поддержание температуры пула библиотек или реагентов
Льдогенератор	Поддержание температуры реагентов

6.2 Материалы, не входящие в комплект поставки

Наименование материалов	Функция
Безворсовые салфетки	Очистка лабораторного оборудования
Бумага для очистки линз	Очистка лабораторного оборудования
Наконечники для дозаторов (свободные от нуклеаз)	Подготовка реагентов
Одноразовые неопудренные перчатки	Средства индивидуальной защиты
Микроцентрифужные пробирки объемом 2 мл (свободные от нуклеаз)	Разведение и денатурация пула библиотек, размещение пула в картридж
Лакмусовая бумага (индикаторная)	Измерение pH раствора NaOH
Обеспыливающее средство	Очистка платформы проточной ячейки и самой проточной ячейки
Бутыль объемом 1 л из пластика или стекла	Хранение растворов, не входящих в комплект поставки

6.3 Растворы, не входящие в комплект поставки

Наименование растворов, не входящих в комплект поставки	Функция
TE буфер pH=8,0, свободный от ДНКаз	Разведение пула библиотек
0,2 М Tris-HCl pH=7,0, свободный от ДНКаз	Нейтрализация NaOH
0,5% Tween 20	Промывка системы подачи жидкости в приборе
0,12% NaOCl	Промывка системы подачи жидкости в приборе
3 М NaOH	Промывка системы подачи жидкости в приборе. Денатурация пула библиотек
Очищенная вода	Промывка системы подачи жидкости в приборе и подготовка реагентов
75% этанол	Обработка внешней поверхности прибора
96% этанол	Очистка платформы проточной ячейки и самой проточной ячейки

Предупреждения

- ♦ Используйте только воду для лабораторий, к которым относятся деионизированная вода, вода с сопротивлением 18 мегаом (МОм), высокочистая вода и ультрачистая вода, а также аналогичная вода для молекулярной биологии. Запрещается использовать водопроводную воду.

7 ТРЕБОВАНИЯ БЕЗОПАСНОСТИ

В этом разделе представлены требования безопасности при использовании секвенатора, которые включают в себя требования к транспортированию и хранению, установке, выделяемому пространству и электробезопасности. Кроме того, приведены требования к производственной среде и безопасности оператора.

7.1 Требования к транспортированию и хранению до ввода в эксплуатацию

- ♦ Температура окружающей среды: от -10 °C до +50 °C
- ♦ Относительная влажность воздуха: 15–85% (без образования конденсата)

7.2 Требования к установке

Предупреждения

- ♦ Только персонал по послепродажному обслуживанию или квалифицированный персонал, уполномоченный производителем, может распаковывать, перемещать, устанавливать, вводить в эксплуатацию и ремонтировать секвенатор. Ненадлежащая установка и эксплуатация повлияет на работоспособность устройства или приведет к его повреждению.
- ♦ После получения прибора следует проверить, что внешняя упаковка не повреждена. При наличии повреждений обратитесь в отдел послепродажного обслуживания.
- ♦ Чтобы избежать травм, связанных с падением, секвенатор должен быть установлен на горизонтальный лабораторный стол и убедитесь в его устойчивости и неподвижности.
- ♦ Не перемещайте устройство. Ненадлежащее перемещение секвенатора может повлиять на эффективность его работы. Если необходимо переместить или транспортировать секвенатор, обратитесь в отдел послепродажного обслуживания.
- ♦ При размещении прибора не закрывайте доступ к переключателю рабочей станции.

7.3 Требования к выделяемому пространству

Размеры блока секвенирования: 1170 мм (длина) x 690 мм (ширина) x 600 мм (высота) (без учета выравнивающих ножек). Масса блока секвенирования: около 200 кг.

Для ремонта и обслуживания секвенатора, а также обеспечения доступа к кабельным соединениям, переключателю питания и облегчения отвода тепла необходимо выделить достаточно свободного пространства вокруг секвенатора.

Требования к выделяемому пространству, следующие:

- ♦ Размеры лабораторного стола, на котором будет размещен секвенатор, должны составлять ≥ 1250 мм (длина) x 750 мм (ширина), а допустимая нагрузка должна быть ≥ 280 кг
- ♦ При установке расстояние между рабочей станцией, отсеком для жидких отходов и блоком секвенирования должно составлять ≤ 1 м
- ♦ Свободное пространство спереди: ≥ 1200 мм
- ♦ Свободное пространство по бокам и сзади: ≥ 700 мм
- ♦ Свободное пространство над лабораторным столом: ≥ 1500 мм
- ♦ Расстояние от электрической розетки: ≤ 1500 мм

Предупреждения

- ♦ Секвенатор следует устанавливать в среде, не содержащей пыли, едких и горючих газов, источников тепла и сквозняка, а также в месте, защищенном от прямых солнечных лучей.
- ♦ Убедитесь в том, что порт входа воздуха в нижней части секвенатора и порты выхода воздуха слева и сзади не заблокированы посторонними объектами.
- ♦ Не размещайте на лабораторном столе вместе с секвенатором другое оборудование, способное создавать вибрации, например центрифугу.
- ♦ Не устанавливайте секвенатор рядом с часто используемыми дверями. Открывание и закрывание дверей может приводить к вибрации.
- ♦ Не открывайте камеру с охлаждением и не размещайте объекты на приборе в процессе секвенирования.

7.4 Требования электробезопасности

- ♦ Входное напряжение: 100–240 В переменного тока
- ♦ Частота: 50/60 Гц
- ♦ Входная мощность: 2000 ВА
- ♦ Блок секвенирования и рабочая станция должны быть подключены к источнику бесперебойного питания.
- ♦ Секвенатор должен быть подключен к сети с заземлением.
- ♦ Секвенатор должен соответствовать ГОСТ IEC 61010-1, ГОСТ IEC 61010-2, ГОСТ IEC 61010-2-081, ГОСТ IEC 61010-2-101.

По электромагнитной совместимости секвенатор относится:

- ♦ к классу Б по ГОСТ Р 51318.11;
- ♦ к классу В по ГОСТ Р МЭК 61326-1;
- ♦ к классу 1 по ГОСТ 30804.4.11.

По степени защиты от проникновения твердых предметов и воды при эксплуатации (ГОСТ 14254) секвенатор относится к IP20.

Предупреждения

- ♦ Секвенатор должен эксплуатироваться при сопротивлении контура заземления не более 4 Ом.

- ◆ Убедитесь в том, что спецификации источника питания соответствуют требованиям секвенатора.
- ◆ Когда секвенатор включен, не отключайте соединительные кабели, в том числе кабели портов DB62, USB 2.0, USB 3.0 и DVI.
- ◆ Не оставляйте на секвенаторе пробирки или наборы реагентов. Жидкости, попавшие в секвенатор, могут привести к его неисправности.
- ◆ Для нормальной работы секвенатора убедитесь в том, что он совместим с электромагнитной средой.
- ◆ Перед эксплуатацией секвенатора рекомендуется выполнить оценку условий электромагнитной среды.
- ◆ Устройство может вызывать радиопомехи, что требует принятия мер защиты.
- ◆ Запрещается эксплуатация секвенатора рядом с сильными источниками излучений (такими как незранированные РЧ-источники), так как они могут нарушать нормальную работу секвенатора.
- ◆ При эксплуатации секвенатора методом, отличным от указанного ООО «Сесана», защита, обеспечиваемая оборудованием, может быть нарушена.
- ◆ Для подключения устройства к сети необходимо использовать только кабель электропитания, входящий в комплектацию. Использование другого кабеля питания может привести к повреждению устройства.

7.5 Требования к эксплуатационной среде

- ◆ Температура окружающей среды: от +19 °C до +22 °C
- ◆ Относительная влажность воздуха: от 20 до 70% (без образования конденсата)
- ◆ Высота помещения: ≤ 3000 м над уровнем моря
- ◆ Колебания напряжения сети ±10%

Предупреждения

- ◆ Колебания температуры и влажности влияют на стабильность процесса секвенирования, и обязательные требования к производственной среде должны соблюдаться, даже когда прибор не работает. Следовательно, в лаборатории, где находится прибор, должно быть установлено оборудование для регуляции температуры и влажности.

7.6 Требования охраны окружающей среды

- ◆ Секвенатор должен быть безопасен в отношении окружающей среды, здоровья и генетического фонда человека при применении (в том числе при хранении, транспортировании и утилизации).
- ◆ Материалы, из которых изготовлен секвенатор, не обладают способностью образовывать токсичные соединения в воздушной среде при температуре окружающей среды.

7.7 Требования по безопасности оператора

- ◆ Химические компоненты, содержащиеся в стартовом наборе и отходах от них, могут вызывать раздражение глаз, кожи и слизистых оболочек. Необходимо соблюдение правил безопасности при работе в лаборатории и использование средств индивидуальной защиты (лабораторный халат, защитные очки, маска и перчатки) во время работы с прибором.
- ◆ Если брызги содержимого стартового набора или жидких отходов случайно попали в глаза или на кожу, немедленно промойте их большим количеством воды и обратитесь за медицинской помощью.
- ◆ Используйте и храните стартовый набор в соответствии с руководством по эксплуатации. Невыполнение этого требования может снизить эффективность стартового набора и привести к неточным результатам. Перед использованием стартового набора проверьте срок годности его компонентов. Не используйте компоненты стартового набора с истекшим сроком годности.
- ◆ В соответствии с СанПиН 2.2.4.3359-16 секвенатор не должен создавать шум, превышающий 80 дБА.

8 ПРОВЕДЕНИЕ СЕКВЕНИРОВАНИЯ

8.1 Работа с компонентами стартового набора

8.1.1 Подготовка картриджа

- ♦ Извлеките картридж из коробки.



Рисунок 18. Извлечение картриджа из коробки

- ♦ Поместите картридж в резервуар с достаточным количеством воды комнатной температуры. Уровень воды не должен превышать три четверти от высоты картриджа.
- ♦ Дождитесь полного размораживания реагентов. Обычно это занимает не более 1 часа.
- ♦ Уберите излишки воды с внешней поверхности картриджа с помощью безворсовой салфетки, осторожно переверните картридж вверх дном и обратно 5 раз для равномерного перемешивания реагентов. Убедитесь в том, что реагенты полностью разморожены и перемешаны. Если в реагентах есть кристаллы льда, продолжайте размораживание в воде при комнатной температуре. Осторожно постучите картриджем по столу, чтобы уменьшить количество пузырьков воздуха в нижней части картриджа.

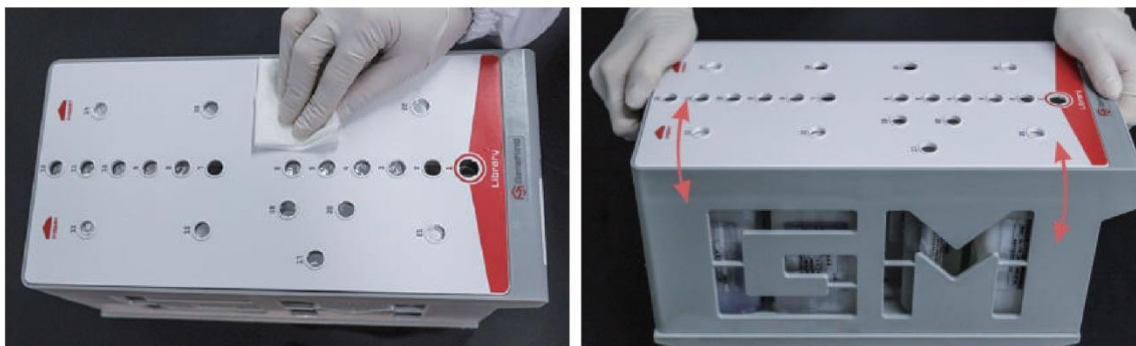


Рисунок 19. Подготовленный картридж с реагентами для секвенирования

- ♦ Поместите подготовленный картридж в холодильник с температурой от +2 °C до +8 °C и начните настройку запуска.
- ♦ Подготовленный картридж необходимо использовать в течение 24 часов.

Примечания:

- ♦ Картридж можно разморозить, поместив его в холодильник с температурой от +2 °C до +8 °C на 18 ч.
- ♦ Недостаточно размороженный картридж может повредить модуль секвенатора и повлиять на результаты секвенирования.
- ♦ В картридже не должно быть крупных пузырей воздуха, которые могут повлиять на результаты секвенирования.
- ♦ Не допускается подвергать картридж повторному замораживанию.

Предупреждения

- ♦ Картридж содержит потенциально опасные химические вещества. При их вдыхании, проглатывании, попадании на кожу или в глаза существует опасность причинения вреда здоровью.
- ♦ Разбор картриджа и использование его не по назначению запрещены.
- ♦ Использованный картридж следует утилизировать как медицинские отходы класса Б в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684.

8.1.2 Подготовка проточной ячейки

- ♦ Держите проточную ячейку при комнатной температуре не менее 30 мин, но не более 12 ч.



Рисунок 20. Внутренняя упаковка проточной ячейки

- ♦ Вскройте упаковку по надрезу и извлеките проточную ячейку.



Рисунок 21. Распаковка и извлечение проточной ячейки

- ♦ Смочите бумагу для очистки линз небольшим количеством 96% этанола и протрите переднюю поверхность проточной ячейки 3–5 раз, пока на стеклянной поверхности не останется видимых волокон или загрязнений.
- ♦ Протирайте всю стеклянную поверхность проточной ячейки сразу, а не по частям.
- ♦ Протирайте проточную ячейку в одном направлении, не совершайте возвратных движений.



Рисунок 22. Очистка проточной ячейки в одном направлении

- ♦ Протрите алюминиевую пластину на задней стороне проточной ячейки аналогичным способом, чтобы не осталось пыли, грязи, потеков и других загрязнений.
- ♦ Поместите очищенную проточную ячейку в чистое место, пока не будете готовы к настройке запуска секвенирования.

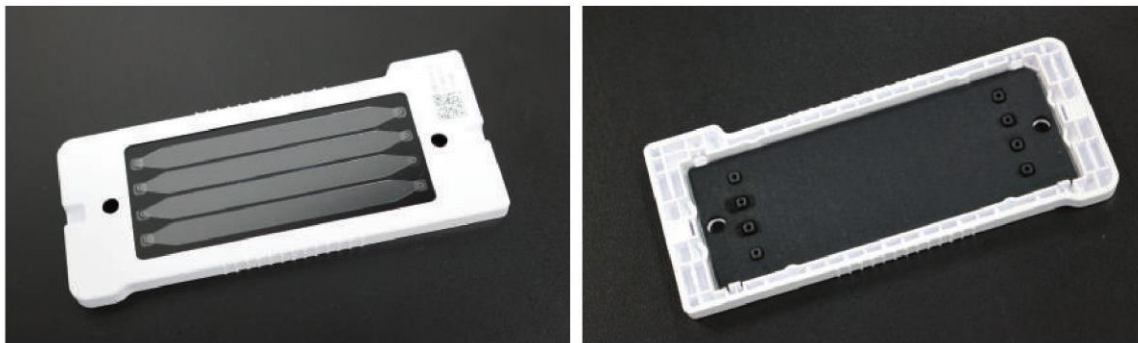


Рисунок 23. Подготовленная проточная ячейка для секвенирования

Примечания:

- ♦ Не касайтесь портов входа и выхода реагентов проточной ячейки при очистке, чтобы 96% этанол не попал внутрь проточной ячейки.
- ♦ Использованную проточную ячейку следует утилизировать как медицинские отходы класса Б в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684.

8.1.3 Разведение и денатурация пула библиотек перед секвенированием

Денатурацию пула библиотек ДНК проводят за 30 минут до запуска.

Для разведения и денатурации пула библиотек ДНК необходимо использовать 3 М NaOH, TE буфер pH=8,0, 0,2 М Tris-HCl pH=7,0, буфер для гибридизации.

1. Поместите 0,2 М Tris-HCl pH=7,0 и буфер для гибридизации на лед или штатив-охладитель.
2. Разведите пул библиотек ДНК с помощью TE буфер pH=8,0 до концентрации 4 нМ в объеме не менее 10 мкл.
3. Подготовьте не менее 10 мкл 0,2 М NaOH из 3 М раствора NaOH для денатурации пула библиотек ДНК, pH готового раствора должен быть >13.
4. Добавьте 5 мкл 4 нМ пула библиотек в подготовленную промаркированную 2 мл микроцентрифужную пробирку.
5. Добавьте 5 мкл 0,2 М NaOH к пулу библиотек ДНК. Тщательно перемешайте вортексированием.
6. Инкубируйте 5 минут при комнатной температуре (от +15 до +25 °C).
7. После инкубации добавьте 5 мкл 0,2 М Tris-HCl pH=7,0.
8. Добавьте 985 мкл предварительно охлажденного буфера для гибридизации. Тщательно перемешайте вортексированием.
9. В результате получен 1 мл денатурированного (одноцепочечного) пула библиотек ДНК с концентрацией 20 пМ. Поместите полученный пул библиотек ДНК на штатив-охладитель и производите на нем все дальнейшие действия для предотвращения ее ренатурации.

Примечание: Если концентрация пула библиотек ДНК менее 4 нМ, но более 0,1 нМ, проведите те же манипуляции для получения конечной концентрации 20 пМ, но с измененными объемами реактивов. Важно обеспечить следующее объемное соотношение: пул библиотек ДНК : 0,2 М NaOH : 0,2 М Tris-HCl pH=7,0 = 1:1:1. Однако денатурация пула библиотек ДНК с низкой концентрацией может повлиять на количество данных секвенирования.

10. Разведите пул библиотек ДНК с концентрацией 20 пМ до 2-3 пМ, используя таблицу ниже. Концентрация для загрузки на ячейку определяется пользователем самостоятельно, в зависимости от задач анализа. Разведение производите в микроцентрифужной пробирке объемом 2,0 мл.

Концентрация библиотеки, пМ	2	2.3	2.5	3
Объем 20пМ библиотеки, мкл	150	172	187	225
Объем буфера для гибридизации, мкл	1350	1328	1312	1275

11. Тщательно перемешайте полученный пул библиотек ДНК вортиксированием.

12. Утилизируйте все оставшиеся реактивы. 4 нМ и 20 пМ пулы библиотек ДНК необходимо хранить при температуре от -25 °С до -15 °С. По окончании секвенирования и анализа полученных данных 20 пМ пул библиотек ДНК можно утилизировать.

8.2 Запуск и настройка секвенатора

⚠ Предупреждения

♦ Опорожняйте отсек для жидких отходов перед каждым секвенированием. Описание процедуры приведено в пп. 8.3.3.

8.2.1 Включение секвенатора

♦ Включите секвенатор с помощью переключателя питания на боковой панели, а затем соответствующую рабочую станцию. Время установления рабочего режима секвенатора и рабочей станции должно составлять не более 500 сек. После появления окна входа в операционную систему введите имя пользователя и пароль.

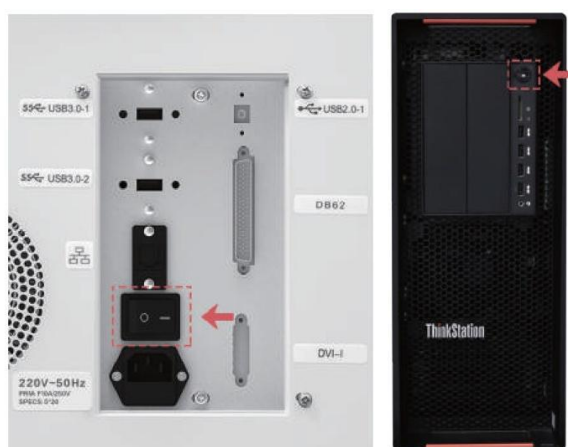


Рисунок 24. Включение секвенатора

Дважды щелкните по значку управляющего программного обеспечения секвенатора на рабочем столе . После открытия диалогового окна введите имя пользователя и пароль для входа в программное обеспечение.

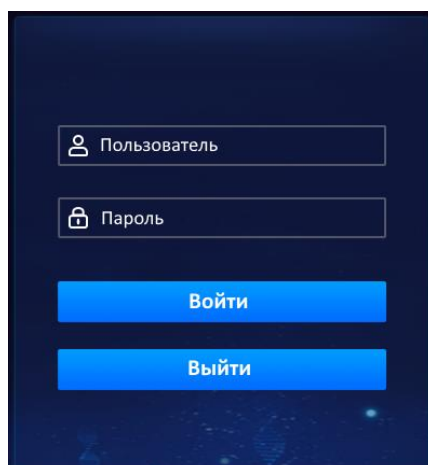


Рисунок 25. Вход в секвенатор

Примечания:

- ♦ Перед запуском программного обеспечения убедитесь в том, что зажимы проточных ячеек модулей А и В были закреплены.

После входа в систему через программное обеспечение секвенатора запустится самопроверка и инициализируются внутренние и внешние устройства системы. Во время инициализации индикатор выполнения покажет ход процесса. В обычных условиях после 100% инициализации произойдет переход на главный интерфейс программного обеспечения (рис. 26).

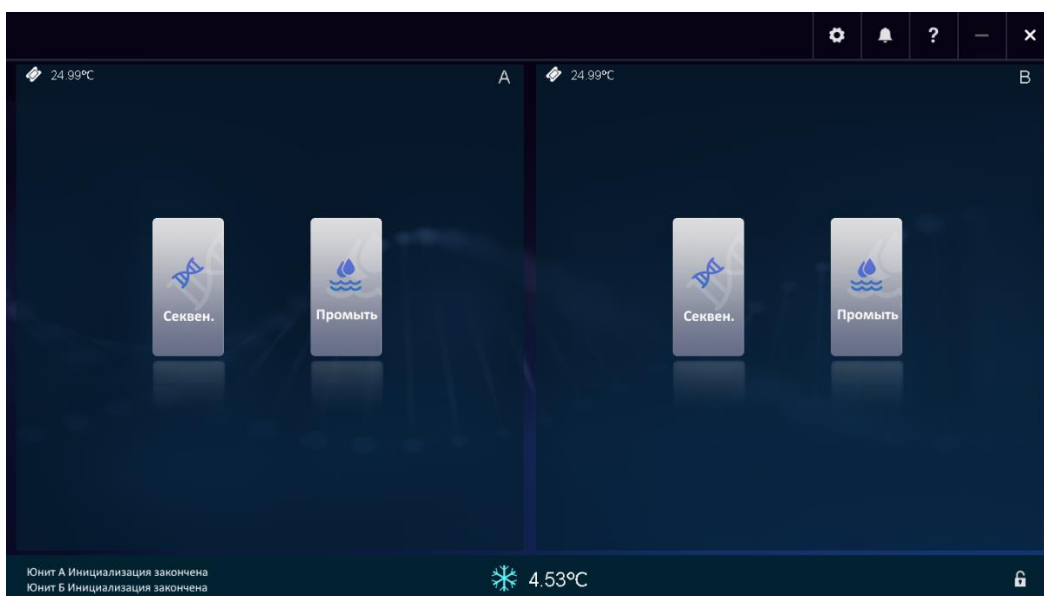


Рисунок 26. Главный интерфейс программного обеспечения секвенатора

8.2.2 Выполнение промывки перед запуском

Если с момента промывки системы подачи жидкости после последнего секвенирования прошло не более 24 часов, то промывку перед запуском выполнять не нужно. Если интервал составляет более 24 часов, то необходимо выбрать вариант «Обычная промывка». Процедуру промывки системы подачи жидкости см. в пп. 8.4.

Выполняйте промывку в режиме «Профилактическая промывка» один раз в месяц или если прибор не используется более 7 дней.

8.2.3 Очистка отсека для жидких отходов

Чтобы опорожнить отсек для жидких отходов, откройте крышку, поместите крышку и прикрепленный к ней шланг (с датчиком на шланге) в чистую пустую емкость, утилизируйте жидкие отходы из отсека и закройте крышку обратно.

Опорожняйте отсек для жидких отходов перед каждым секвенированием.

8.2.4 Очистка платформы проточной ячейки

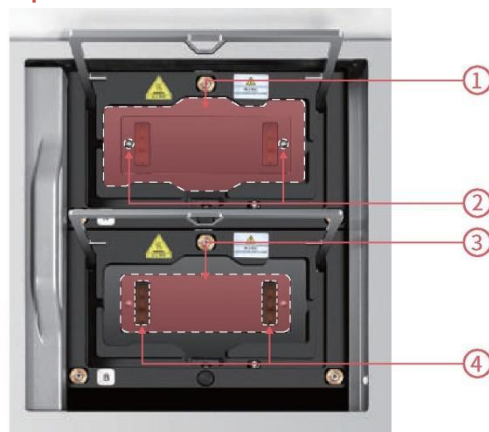


Рисунок 27. Платформа проточной ячейки

Номер	Наименование	Функция
1	Место для загрузки проточной ячейки	Зона крепления проточной ячейки
2	Позиционирующий штифт	Позиционирование проточной ячейки
3	Нагревательная платформа	Удержание проточной ячейки и контроль температуры
4	Соединительный блок	Соединение проточной ячейки и системы подачи жидкости

Смочите бумагу для очистки линз небольшим количеством 96% этанола и протрите нагревательную платформу.

Продуйте воздухом всю платформу проточной ячейки и место загрузки проточной ячейки, используя обеспыливающее средство, пока на поверхности не останется видимых следов пыли и загрязнений.

Предупреждения

- ♦ Не касайтесь портов входа и выхода реагентов соединительного блока при протирании нагревательной платформы, чтобы этанол не попал внутрь отверстий.
- ♦ Проверьте соединительные блоки. Прижмите их пластиковым пинцетом с плоскими концами, чтобы проверить, что они плавно движутся вверх и вниз, и убедитесь в том, что порты входа и выхода реагентов соединительного блока чистые и не содержат чужеродных объектов.
- ♦ При наличии трудноудаляемого загрязнения, которое невозможно убрать непосредственным протиранием места загрузки проточной ячейки или задней стороны проточной ячейки, можно использовать пластиковый инструмент, например наконечник, и отскоблить загрязнение.

Опасность защемления руки

- ♦ Необходимо соблюдать осторожность для предотвращения защемления руки в процессе установки проточной ячейки!

8.2.5 Редактирование информационного листа анализа

Перед началом секвенирования необходимо выполнить редактирование информационного листа анализа (шаблон информационного листа анализа находится на рабочем столе сенсорного экрана секвенатора). Необходимо заполнить информационный лист анализа, обратившись к требованиям Инструкции по применению набора реагентов для приготовления библиотек. Параметры в листе описаны ниже:

#	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K
1	[Заголовок]										
2	Название Анализа	Фикс V4									
3	Описание										
4	Режим										
5	Демультиплекс	1									
6											
7	[Длина прочтений]										
8		75									
9		75									
10											
11	[Данные]										
12	ID Образца	Имя Образца	№ Плашки	№ Лунки	№ Индекса 1	индекс 1	№ Индекса 2	индекс 2	Исследование	Описание	
13	Фикс V4-1					TTTCCTTC		CCCTTCCT			
14	Фикс V4-2					AAAGGAAG		GGGAAGGA			
15	Фикс V4-3					CCCTTCCT		TTTCCTTC			
16	Фикс V4-4					GGGAAGGA		AAAGGAAG			
17											
18											
19											
20											
21											

Рисунок 28. Редактирование информационного листа анализа

Номер	Ячейка	Содержание	Функция	Инструкции по заполнению
1	B2	Название анализа	Название данного анализа	Не более 30 символов, включая английские буквы, цифры и символ подчеркивания
2	A8	Количество циклов секвенирования исходной цепи ДНК	Указывает количество циклов секвенирования исходной цепи ДНК	Любое целое положительное число от 30 до 300
3	A9	Количество циклов секвенирования обратной цепи ДНК	Указывает количество циклов секвенирования обратной цепи ДНК. Не указывается для одноконцевого секвенирования (SE).	Любое целое положительное число от 30 до 300
4	B5	Демультиплексирование	Определяет, является ли разбиение по индексам автоматическим	0: разбиение по индексам не выполняется автоматически; 1: разбиение по индексам выполняется автоматически
5	Начиная с A13	Идентификатор образца	Идентификация образца	Не более 30 символов, включая английские буквы, цифры и символ подчеркивания
6	Начиная с F13	Последовательность индекса 1	Определяет последовательность индекса 1, заданную для соответствующего образца	Символы «ATCGNM», при этом «N» используется для дополнения индексной последовательности и смешанных образцов для

Номер	Ячейка	Содержание	Функция	Инструкции по заполнению
7	Начиная с H13	Последовательность индекса 2	Определяет последовательность индекса 2, заданную для соответствующего образца	секвенирования, а «М» – для последовательности UMI. Суммарная длина «индекс 1 + индекс 2» не должна превышать 40 символов.

Предупреждения

- ♦ Информацию об образцах редактируют начиная с 13 строки и ниже, где для каждого образца указывается уникальная индексная последовательность или комбинация индексных последовательностей соответствующих индексным олигонуклеотидам, используемым для приготовления библиотеки ДНК. Для снижения вероятности ошибки при внесении информации об индексных последовательностях воспользуйтесь Приложением Б.
- ♦ Если проверка индексной последовательности в при анализе не требуется, область с 13 строки оставляют пустой.

8.2.6 Загрузка пула библиотек ДНК в картридж

У пробирки объемом 2 мл, в которой содержится 2–2,5пМ денатурированного пула библиотек ДНК, ножницами обрежьте петлю, присоединяющую крышку (крышка при этом должна быть плотно закрыта). Поместите пробирку в предназначенную для пула библиотек ДНК лунку №1 картриджа и убедитесь в том, что пробирка установлена максимально глубоко (рис. 29). Поместите подготовленный картридж в темное место с температурой от +2 °С до +8 °С до тех пор, пока не будете готовы к настройке запуска.

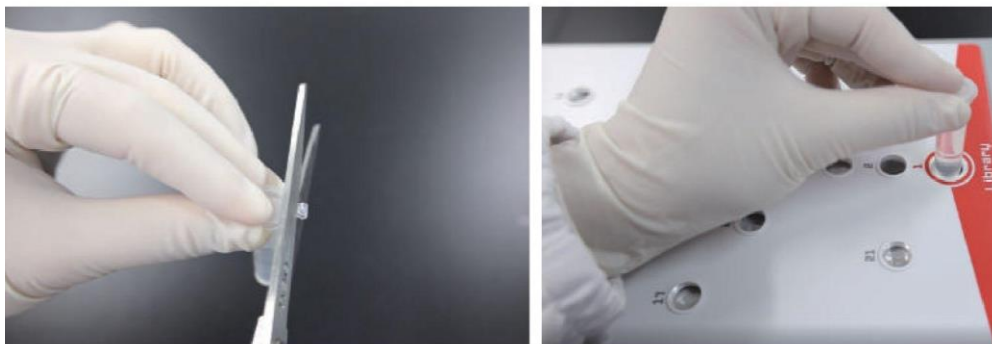


Рисунок 29. Загрузка микроцентрифужной пробирки с пулом библиотек в картридж

Настройте запуск секвенирования в кратчайшее время после того, как пул библиотек ДНК будет готов для секвенирования.

8.2.7 Режимы запуска секвенирования

Существуют два режима запуска секвенирования:

- ♦ запуск секвенирования в режиме одного модуля или синхронный запуск секвенирования в режиме двух модулей;
- ♦ несинхронный запуск секвенирования в режиме двух модулей.

Запуск секвенирования в режиме одного модуля или синхронный запуск секвенирования в режиме двух модулей

К основным этапам настройки нового запуска секвенирования в режиме одного модуля или синхронного запуска секвенирования в режиме двух модулей относятся: выбор модуля секвенирования, импорт информационного листа анализа, загрузка проточной ячейки и картриджа

для секвенирования, подтверждение параметров секвенирования и запуск процесса секвенирования.

- 1) На главном экране управляющего программного обеспечения секвенатора выберите используемый модуль секвенирования и нажмите на кнопку «Секвен.» (секвенирование) для перехода на экран «Образцы» соответствующего модуля.
- 2) На экране «Образцы» нажмите на кнопку «Импорт» для загрузки информационного листа анализа (в формате *.csv), отредактированного в соответствии с пп. 8.2.5. После успешного импорта основные параметры данного анализа по секвенированию будут отображены на экране. Внимательно проверьте параметры секвенирования.

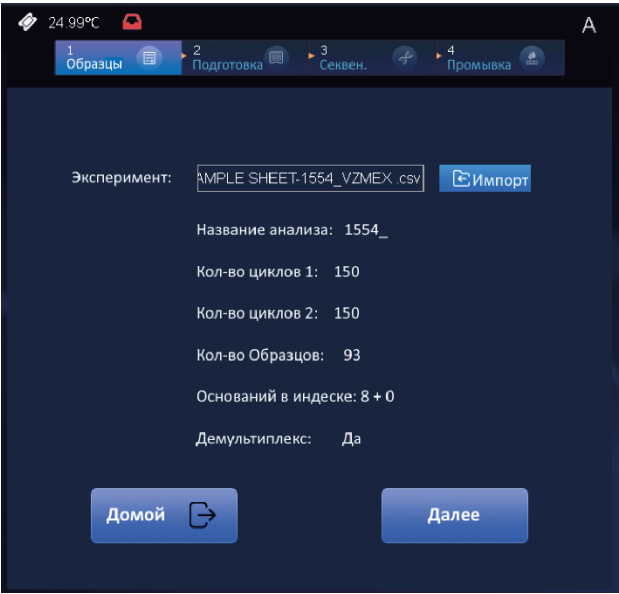


Рисунок 30. Экран «Образцы», отображающий импортированные параметры секвенирования

Наименование	Функция
Кол-во циклов 1	Количество циклов секвенирования при одноконцевом секвенировании (SE) или количество прочтений исходной цепи ДНК при парноконцевом секвенировании (PE).
Кол-во циклов 2	Количество циклов секвенирования обратной цепи ДНК при парноконцевом секвенировании (PE). При одноконцевом секвенировании (SE) будет отображаться значение Н/П.
Кол-во образцов	Количество анализируемых образцов. Если при анализе не используются индексные последовательности, в параметре отображается значение Н/П.
Оснований в индексе	Сумма длин последовательностей индекса 1 и индекса 2. Если при анализе не используются индексные последовательности, значение параметра отображается как «0».
Демультиплекс	Имеется ли разделение образцов по индексам: да или нет. Если при анализе не используются индексные последовательности, информация не отображается.

- 3) Нажмите на кнопку «Далее» для перехода на экран «Подготовка». Выполните загрузку проточной ячейки и картриджа:

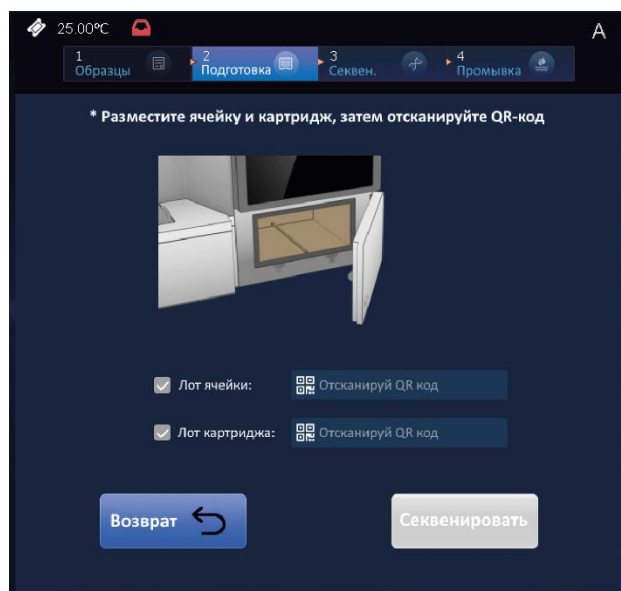


Рисунок 31. Экран «Подготовка», отображающий информацию о проточной ячейке и картридже

① Загрузка проточной ячейки: Руководствуясь анимированными подсказками на экране, откройте дверцу отсека для проточных ячеек и уберите пыль (если есть) в месте загрузки проточной ячейки с помощью обеспыливающего средства. Нажмите на переключатель зажима проточной ячейки, откройте зажим соответствующего модуля и загрузите проточную ячейку, удерживая ее за края. Необходимо убедиться в том, что проточная ячейка полностью и ровно вошла в углубление для проточной ячейки. Надавите на зажим так, чтобы он закрепился. Значок удержания проточной ячейки на дисплее сменится с красного мигающего  на белый постоянный .

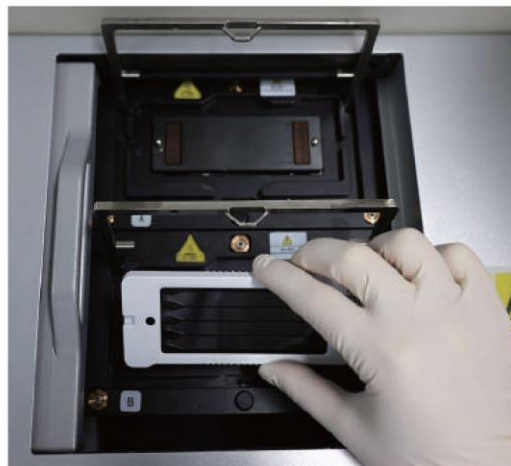


Рисунок 32. Загрузка проточной ячейки для секвенирования

Предупреждения

- ♦ Отверстие для нагнетания воздуха обеспыливающего средства не должно находиться прямо напротив портов входа и выхода реагентов соединительного блока и проточной ячейки.
- ♦ Место для загрузки проточной ячейки, находящееся дальше от пользователя, соответствует модулю А, а место для загрузки проточной ячейки, находящееся ближе к пользователю, соответствует модулю В.
- ♦ Не ронять сканер штрих-кодов! Хрупкий!

② Сканирование QR-кода проточной ячейки: После загрузки проточной ячейки нажмите на поле ввода QR-кода рядом с надписью «Лот ячейки» на экране и отсканируйте QR-код на проточной ячейке сканером (идет в комплекте к прибору). Система автоматически проверит допустимость

проточной ячейки. Если проточная ячейка является допустимой, значок состояния проточной ячейки сменится на , после чего закройте дверцу отсека для проточной ячейки. Если система обнаружила, что проточная ячейка является недопустимой, значок состояния проточной ячейки сменится на , а в окне ввода QR-кода появится соответствующая ошибка. Замените проточную ячейку на допустимую и повторно отсканируйте код.

③ Загрузка картриджа: Снимите крышку с микроцентрифужной пробирки, содержащей пул библиотек ДНК и установленной в лунку №1 картриджа, откройте дверцу камеры с охлаждением и горизонтально вставьте картридж до упора. После правильного установления картриджа значок на дисплее сменится с красного мигающего  на белый постоянный .

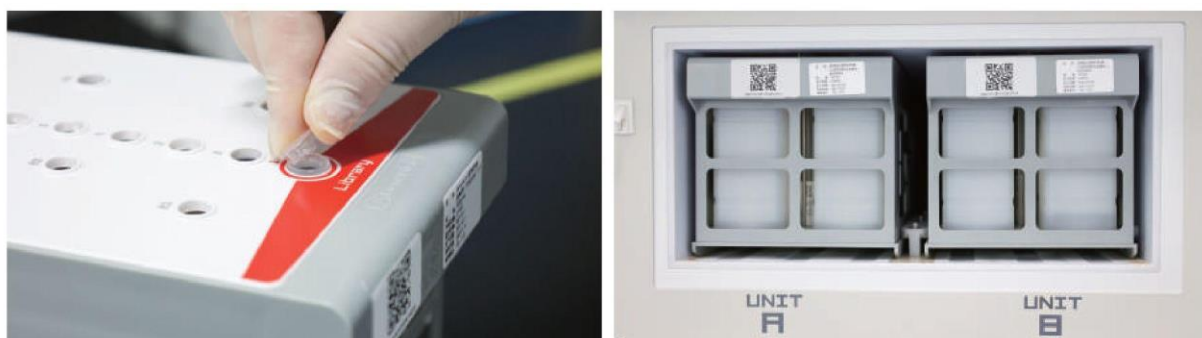


Рисунок 33. Снятие крышки с пробирки, содержащей пул библиотек ДНК, и загрузка картриджа с реагентами для секвенирования

④ Отсканируйте QR-код картриджа: После загрузки картриджа нажмите на поле ввода QR-кода рядом с надписью «Лот картриджа» на экране и отсканируйте QR-код на картридже с помощью сканера. Система автоматически проверит допустимость картриджа для секвенирования. Если картридж является допустимым, значок состояния сменится на , после чего закройте дверцу камеры с охлаждением. Если система обнаружила, что картридж является недопустимым, значок состояния картриджа сменится на , а в окне ввода QR-кода появится соответствующая ошибка. Замените картридж на допустимый и снова отсканируйте код.

⑤ При настройке синхронного запуска секвенирования повторите вышеуказанные процедуры для запуска работы второго модуля секвенирования.

⑥ После загрузки проточной ячейки и картриджа, а также их успешной проверки путем сканирования QR-кода активируется кнопка «Секвенировать». В противном случае кнопка «Секвенировать» будет неактивна и серого цвета.

Предупреждения

- ♦ Перед началом секвенирования убедитесь, что сняли крышку с пробирки, содержащей пул библиотек, иначе шприцевой насос будет поврежден.
- ♦ При настройке синхронного запуска секвенирования в режиме двух модулей нажатие на кнопку «Секвенировать» возможно только после загрузки и успешной проверки путем сканирования QR-кодов картриджей и проточных ячеек в модулях A и B.
- ♦ Результат сканирования QR-кода будет отображен на экране в зашифрованном виде. Нажмите на кнопку «Секвенировать», чтобы открыть всплывающее окно с предупреждением о соблюдении техники безопасности. Подтвердите, что микроцентрифужная пробирка с пулом библиотек вставлена в лунку №1 картриджа и крышка с пробирки снята. Нажмите на OK для перехода в окно подтверждения параметров секвенирования.

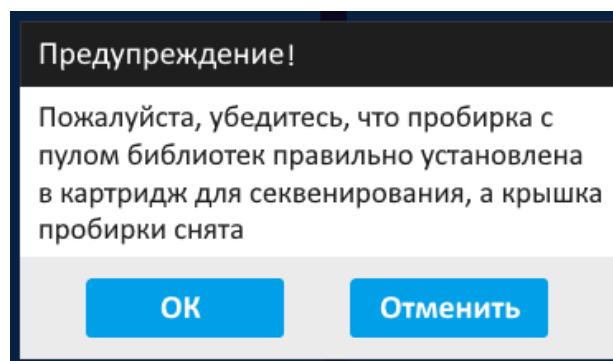


Рисунок 34. Экран с предупреждением о соблюдении техники безопасности перед началом секвенирования

4) Перепроверьте настройки основных параметров секвенирования на экране. При необходимости повторной проверки информации об индексной последовательности образцов нажмите на кнопку «Образцы». Убедившись в правильности настроек параметров секвенирования, нажмите на кнопку «Старт» для начала процесса секвенирования.

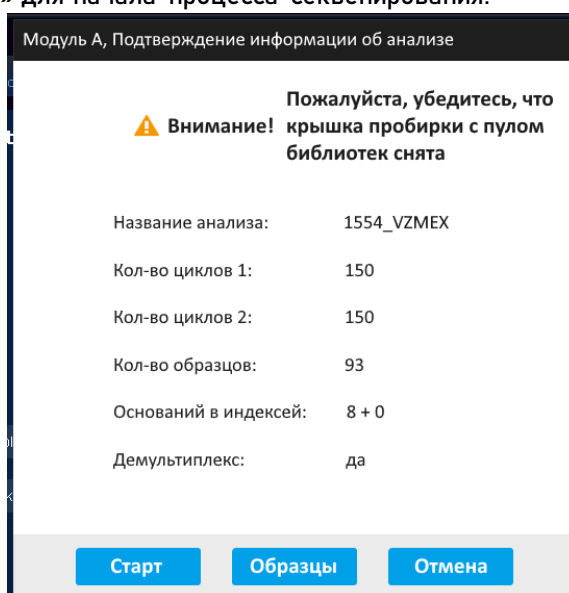


Рисунок 35. Экран подтверждения параметров секвенирования

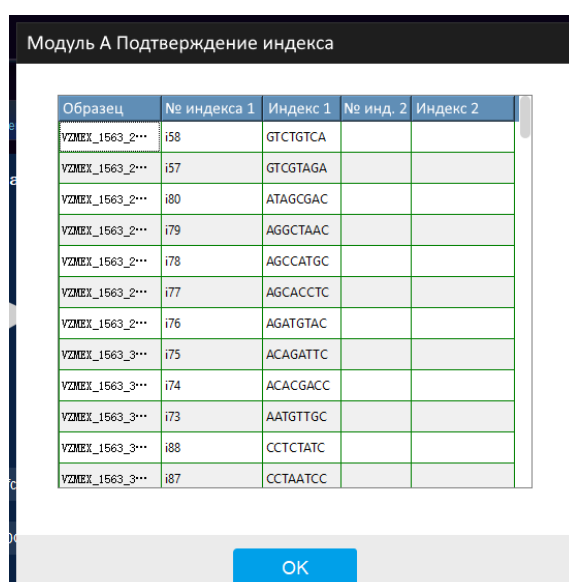


Рисунок 36. Экран информации об индексных последовательностях образцов

5) После успешного начала процесса секвенирования на мониторе будет показана схематическая анимация биохимической реакции. При начале первого цикла прочтения будет отображаться ход секвенирования. На пятом цикле прочтения на экране будет отображаться информация о качестве секвенирования в режиме реального времени.

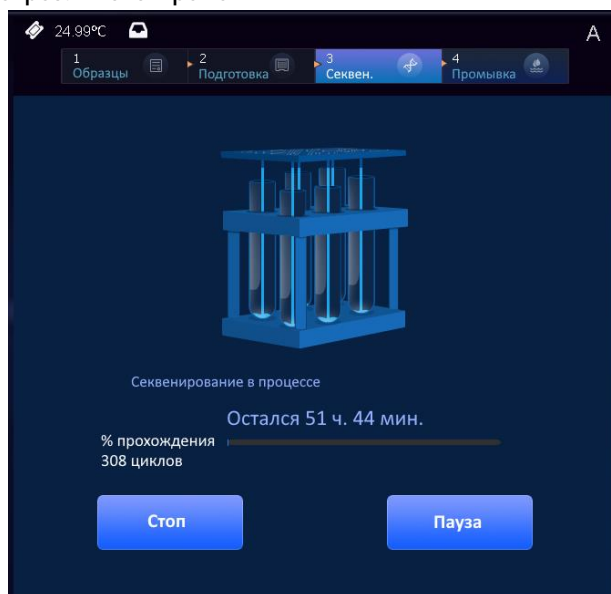


Рисунок 37. Экран со схематической биохимической реакцией

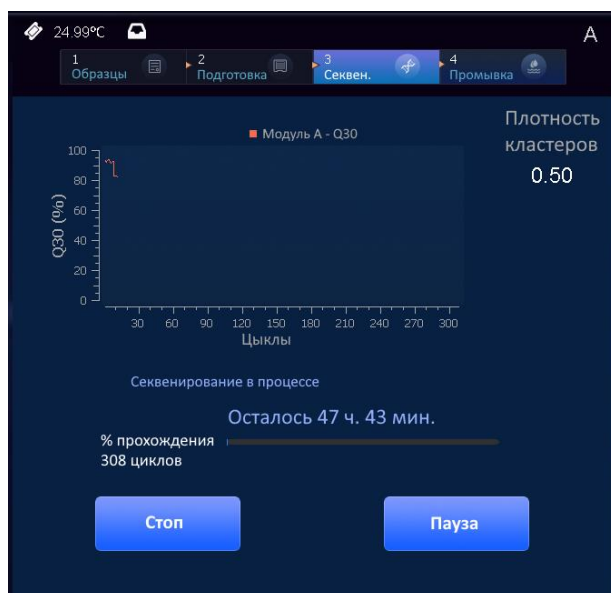


Рисунок 38. Экран в процессе секвенирования

«Пауза»: нажатием на эту кнопку можно приостановить текущий цикл секвенирования.

«Возврат»: нажатие на эту кнопку во время паузы возобновляет процесса секвенирования.

«Стоп»: нажатие на эту кнопку позволяет пользователю преднамеренно завершить текущий цикл секвенирования и непосредственно перейти к диалоговому окну подготовки к промывке после запуска.

Предупреждения

♦ При нажатии на кнопку «Пауза» в процессе секвенирования откроется всплывающее окно для подтверждения приостановки, но при этом секвенирование продолжается в фоновом режиме.

Система не приостановит работу модуля секвенирования до тех пор, пока не будет нажата кнопка «ОК» в окне подтверждения приостановки.

♦ При нажатии на кнопку «Стоп» в процессе секвенирования открывается всплывающее окно для подтверждения завершения, но при этом секвенирование продолжается в фоновом режиме. Система не завершит работу модуля секвенирования до тех пор, пока не будет нажата кнопка «ОК» в окне подтверждения завершения процесса.

♦ Завершенное пользователем секвенирование (путем нажатия кнопки «Стоп») возобновить нельзя. Такой способ является единственно безопасным для выхода из текущего процесса секвенирования. При этом непосредственный выход из управляющего программного обеспечения секвенатора невозможен.

Запуск секвенирования в режиме двух модулей (несинхронный запуск)

Запуском секвенирования в режиме двух модулей (несинхронным запуском) является начало нового запуска секвенирования с использованием другого, свободного модуля для секвенирования, в то время как один модуль секвенирования прибора продолжает работать.

Обязательное условие для начала запуска секвенирования в режиме двух модулей заключается в том, чтобы время, прошедшее с момента промывки системы подачи жидкости в ходе последнего секвенирования с использованием свободного модуля, составляло не более 24 ч, и система подачи жидкости была заполнена водой. Если время, прошедшее с момента промывки, превышает 24 ч, необходимо выполнить регулярную промывку. См. пп. 8.3 для процедуры промывки системы подачи жидкости.

1) Нажмите на кнопку «Секвен.» в главном окне свободного модуля для секвенирования, чтобы перейти на экран «Образцы». После загрузки информационного листа анализа нажмите на кнопку «Далее». Если модуль секвенирования во время работы проводит детекцию, открывается окно с указанием об ожидании (рис. 39).

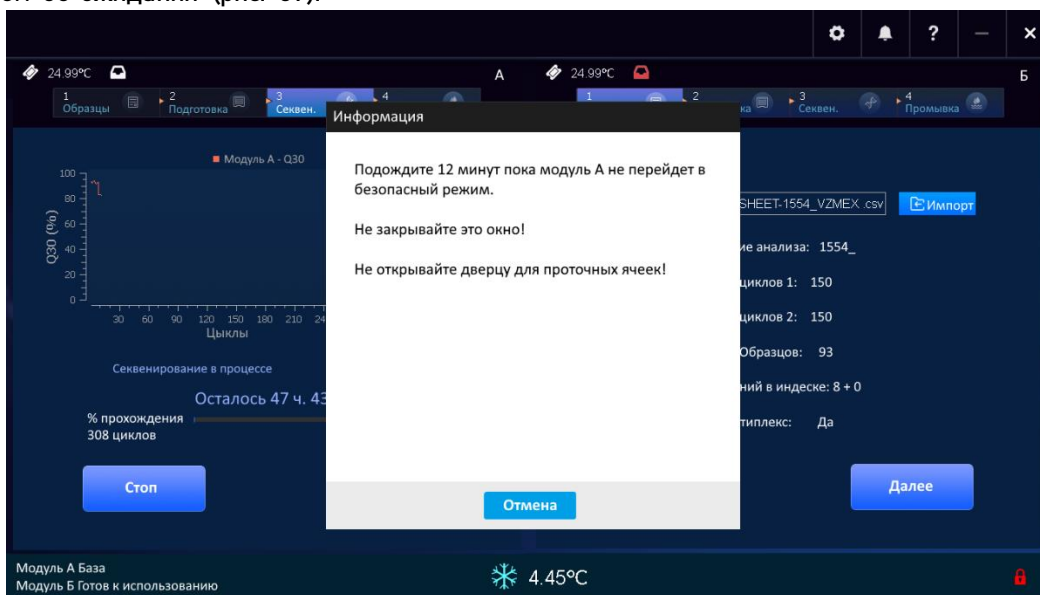


Рисунок 39. Экран с указанием об ожидании в безопасном режиме, активируемый в начале секвенирования в режиме двух модулей.

После перехода к этому экрану не выполняйте никаких операций до тех пор, пока работающий модуль секвенирования не перейдет в безопасный режим, т. е. в состояние приостановки секвенирования. После того, как работающий модуль секвенирования перейдет в безопасный режим, окно предупреждения автоматически закроется, а свободный модуль для секвенирования автоматически перейдет на экран подготовки к секвенированию (рис. 40).

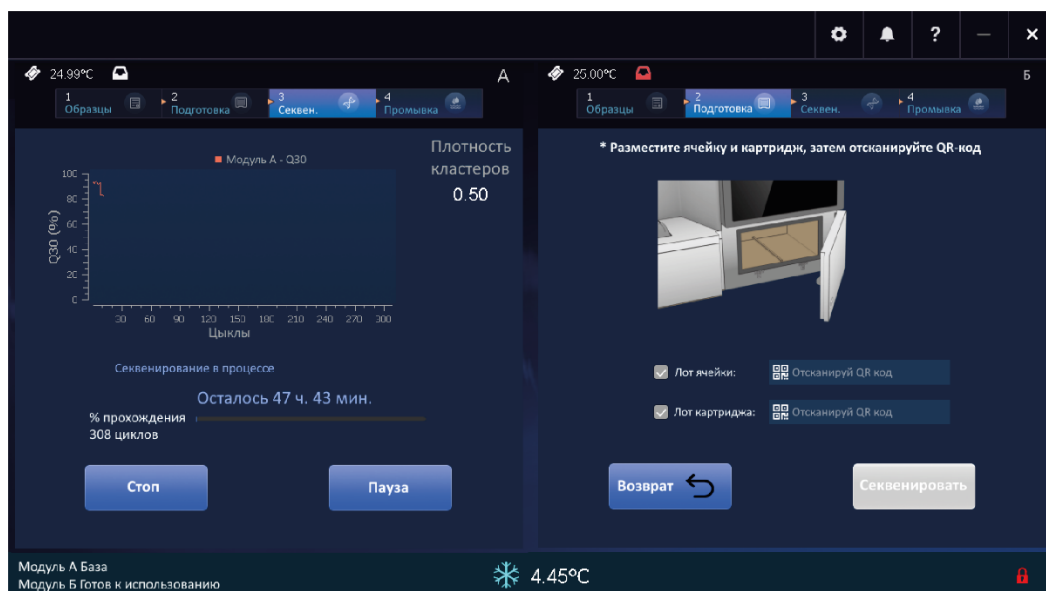


Рисунок 40. Экран модуля секвенирования в безопасном режиме (слева) и подготовки свободного модуля для секвенирования, которую планируется включить (справа).

2) Обеспечьте запуск свободного модуля для секвенирования в течение получаса, включая загрузку проточной ячейки, снятие крышки с пробирки, содержащей пул библиотек, загрузку картриджа и проверку QR-кодов. Нажмите на кнопку «Секвенировать», когда все комплектующие для запуска секвенирования проверены и установлены. После успешного включения модуля другой модуль секвенирования, находившийся в безопасном режиме, автоматически вернется в нормальное состояние секвенирования.

8.2.8 Промывка после запуска

После секвенирования система автоматически выводит окно промывки после запуска (рис. 41). Следуйте инструкциям на экране, чтобы завершить промывку после запуска, последовательно меняя промывочные картриджи с указанными реактивами, подробнее в пп. 8.3.

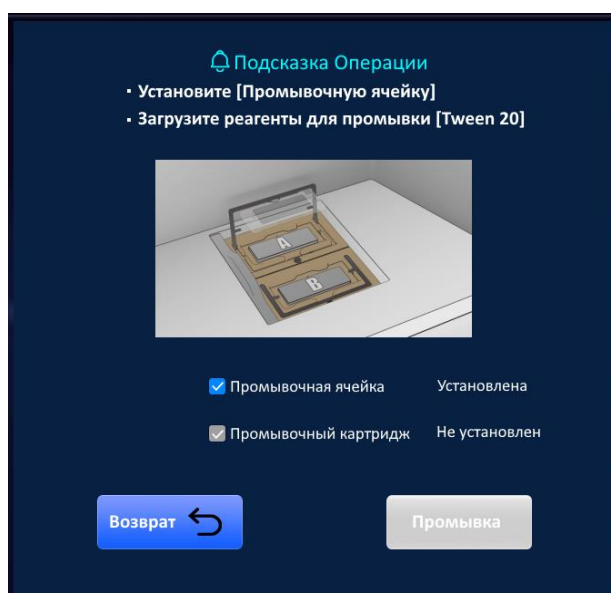


Рисунок 41. Экран промывки после запуска

8.3 Промывки прибора (типы и последовательность)

Предупреждения

♦ Не рекомендуется выполнять промывку другими растворами для промывки, не упомянутыми в инструкции по эксплуатации. Другие растворы для промывки не проверялись и не оценивались на предмет их воздействия на секвенатор.

8.3.1 Подготовка раствора для промывки

Для промывки прибора необходимо приготовить следующие растворы в необходимом объеме.

Раствор для промывки	Подготовка промывочных объемов (секвенирование в режиме одного модуля/секвенирование в режиме двух модулей)
0,5% Tween 20	500 мл / 1000 мл
0,5% Tween 20 + 0,12% NaClO	10 мл / 20 мл
0,1 М NaOH	500 мл / 1000 мл
Вода для промывки	500 мл / 1000 мл

В качестве примера рассмотрим промывку системы подачи жидкости при запуске секвенирования в режиме одного модуля:

- ♦ Приготовление раствора 0,5% Tween 20 (500 мл): в банку объемом 0,5 л поместите 475 мл очищенной воды и добавьте 25 мл 10% Tween 20, тщательно перемешайте. Приготовленный раствор стабилен в течение 1 дня в условиях хранения при комнатной температуре. Tween 20 имеет повышенную вязкость. Убедитесь в точности объема, добавленного в раствор.
- ♦ Приготовление раствора 0,1 М NaOH (500 мл): в банку объемом 0,5 л поместите 483 мл очищенной воды, добавьте 17 мл 3 М NaOH и тщательно перемешайте. Приготовленный раствор стабилен в течение 1 дня в условиях хранения при комнатной температуре. Раствор NaOH может вызывать поражения кожи и слизистых оболочек. Во время приготовления раствора используйте средства индивидуальной защиты.
- ♦ Приготовление раствора 0,5% Tween 20 + 0,12% NaClO (500 мл): в банку объемом 0,5 л поместите 463 мл очищенной воды, добавьте 25 мл 10% Tween 20 и 12 мл 5% NaClO, тщательно перемешайте. Приготовленный раствор стабилен в течение 1 дня в условиях хранения при комнатной температуре. Tween 20 имеет повышенную вязкость. Убедитесь в точности объема, добавленного в раствор.
- ♦ Вода для промывки (500 мл): используйте деионизированную воду, воду с сопротивлением 18 МОм (МΩ), воду высокой чистоты, сверхчистую воду, воду для молекулярной биологии или аналоги. Запрещается использовать водопроводную воду.

8.3.2 Подготовка промывочных картриджей и промывочной проточной ячейки

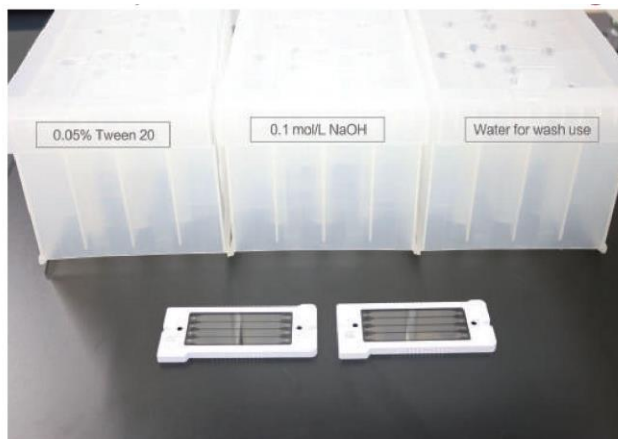


Рисунок 42. Промывочная проточная ячейка и промывочные картриджи

- ♦ Подготовьте промывочную проточную ячейку, входящую в комплект секвенатора.
- ♦ Подготовьте промывочный картридж, входящий в комплект секвенатора: заполните все лунки промывочного картриджа специальным подготовленным раствором для промывки согласно требованиям на экране.

Примечание: Лунку для пула библиотек необходимо заполнить 10 мл смеси 0,5% Tween 20 + 0,12% NaClO.

8.3.3 Режимы промывки

Режимы промывки прибора бывают двух типов: обычная и профилактическая. Выбирайте режим промывки в соответствии с обстоятельствами.

Описание функций режимов промывки и необходимые компоненты:

Режим промывки	Процедура промывки	Применимые ситуации
Обычная промывка	Первая промывка: 0,5% Tween 20	До и после каждого секвенирования
	Промывка клапана для забора пула библиотек: 0,5% Tween 20 + 0,12% NaClO	
	Вторая промывка: 0,1 М NaOH	
	Третья промывка: вода для промывки	
Профилактическая промывка	Первая промывка: 0,5% Tween 20	Один раз в месяц или если прибор находится в режиме ожидания более 7 дней
	Промывка клапана для забора пула библиотек: 0,5% Tween 20 + 0,12% NaClO	
	Вторая промывка: 0,1 М NaOH	
	Третья промывка: вода для промывки	

8.3.4 Запуск промывки

- ♦ Нажмите на кнопку «Промыть» на главном экране программного обеспечения, чтобы перейти в окно выбора режима промывки (рис. 43).

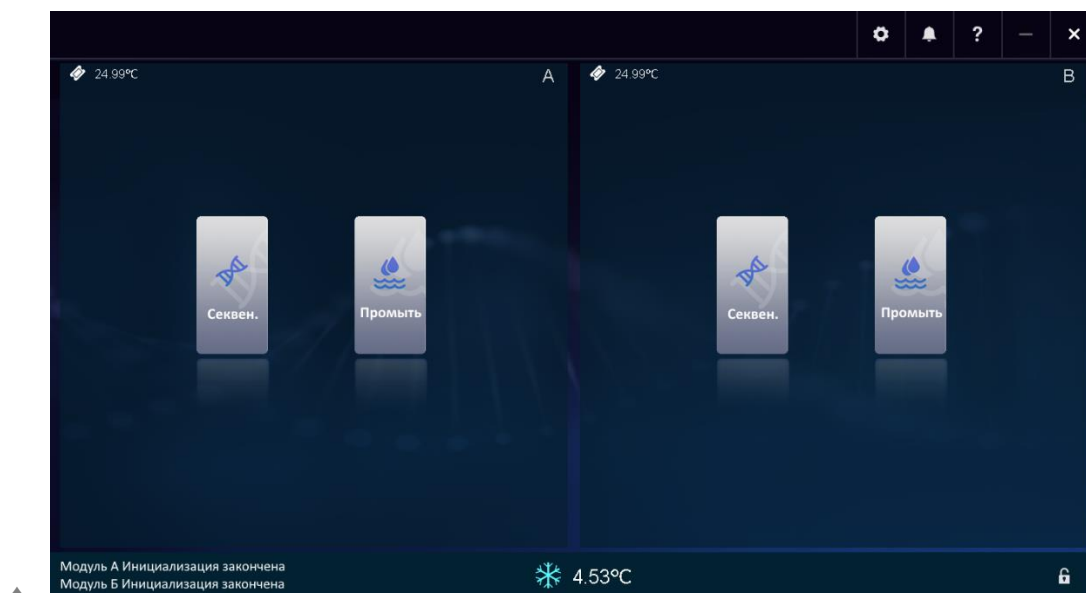


Рисунок 43. Главный экран управляющего программного обеспечения

- ♦ Выберите режим промывки (рис. 44) в зависимости от обстоятельств.

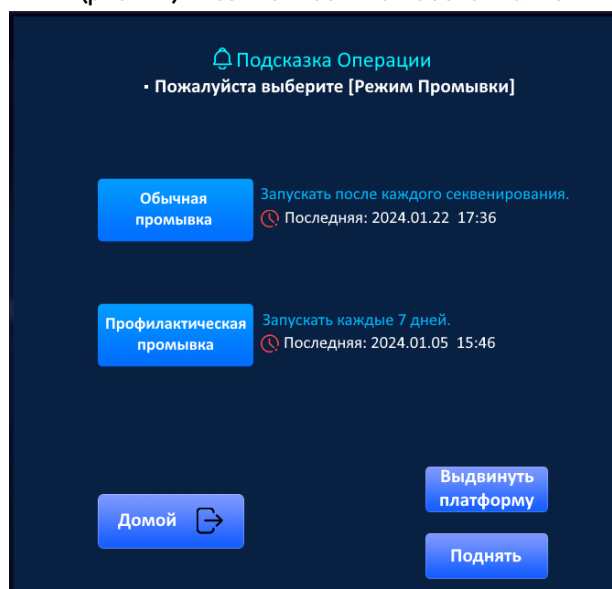


Рисунок 44. Интерфейс выбора режима промывки:

- ♦ Загрузите промывочную проточную ячейку и соответствующий промывочный картридж в камеру с охлаждением до упора. Нажмите на кнопку «Промывка» (рис. 45), после чего система автоматически начнет промывку и отобразится окно с оставшимся временем и промывающим раствором (рис. 46).

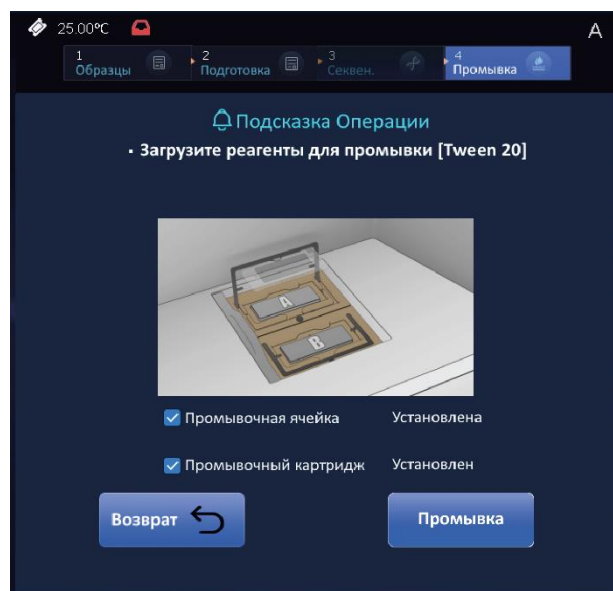


Рисунок 45. Запуск промывки

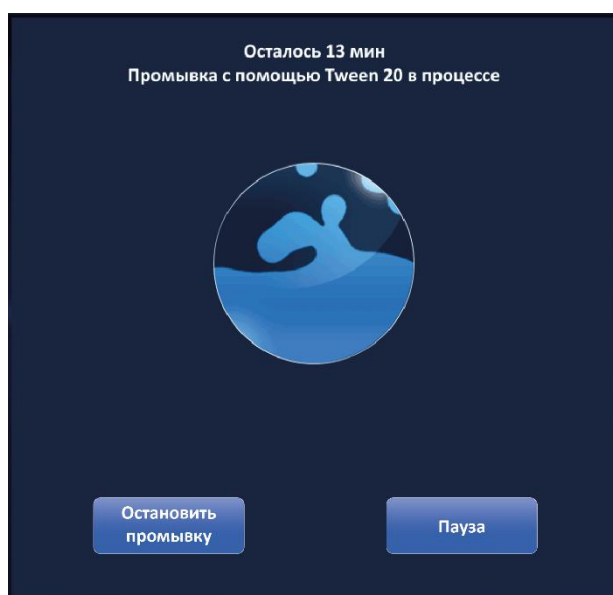


Рисунок 46. Экран во время промывки

После завершения первой промывки системы подачи жидкости секвенатор автоматически приостанавливается и предлагает сменить тип раствора для промывки на другой. Смените картридж для промывки на следующий в соответствии с указаниями и продолжайте промывку системы подачи жидкости до тех пор, пока на экране не появится указание о том, что промывка завершена.

8.4 Представление результатов секвенирования

8.4.1 Структура выходной папки секвенирования

Результаты секвенирования и файлы журнала хранятся в папке E:\GeneMind\Output. Для каждого анализа создается выходная папка для секвенирования, имя которой выбирается по следующему правилу: время начала секвенирования_номер прибора_номер проточной ячейки_номер ячейки_название анализа.

Пример: 202101010800_ GL001_2N210101001US1A4000XX_A_Text

Структура выходной папки для секвенирования схематично показана ниже:

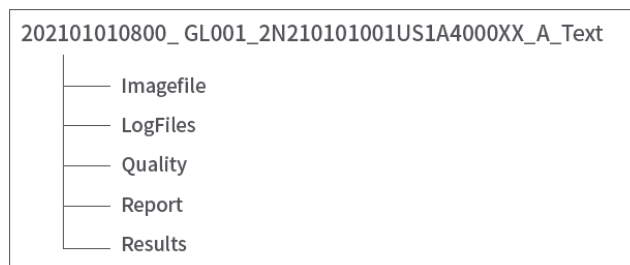


Рисунок 47. Структурная схема выходной папки для секвенирования

Папка содержит 5 вложенных папок:

Imagefile: папка для хранения изображений, полученных в ходе секвенирования, и их миниатюр;

LogFiles: папка для хранения журналов запуска секвенирования;

Quality: папка для хранения изображений, полученных при фокусировке;

Report: папка для хранения временных отчетов, создаваемых в ходе секвенирования;

Results: папка для хранения окончательных данных результатов секвенирования (FastQ) и автономных отчетов.

Предупреждения

- ♦ Во время секвенирования системе необходимо кэшировать некоторые временные файлы на диске D, поэтому до начала секвенирования необходимо убедиться в наличии определенного доступного объема дискового пространства на диске D.
- ♦ При начале секвенирования система автоматически проверит наличие доступного объема памяти на диске D и диске E.

8.4.2 Краткое описание папки результатов

Данные результатов секвенирования и выходные данные автономного отчета хранятся в папке Results, которая содержит следующие виды файлов:

- ♦ Zip-файл *.fq.gz – в зависимости от настроек анализа (пп. 8.2.7) это может быть один или несколько файлов. Файлы с расширением *.fq.gz обычно представляют собой сжатые архивы, содержащие данные в формате FastQ. Последующий анализ, проводится на основе zip-файла *.fq.gz, полученные данные используют в клинической практике в соответствии с инструкцией по применению набора реагентов. Например, для «Набора реагентов для выявления анеуплоидий в геноме человека методом высокопроизводительного секвенирования «МИКРОСКРИН» по ТУ 21.20.23-003-95224908-2020», производства ООО «Сесана», Россия, регистрационное удостоверение – РЗН 2024/22763 используется программное обеспечение «Микроскрин-анализ», входящее в комплект поставки вышеуказанного набора реагентов. Для других медицинских изделий (наборов реагентов), применяемых в комбинации с секвенатором анализ должен осуществляться указанным в руководстве эксплуатации для этого изделия способом.
- ♦ Файл статистики *.statInfo.csv – содержит ключевые метрики качества данных секвенирования, такие как плотность кластеров, Q30, процент прочтений с качеством выше Q30, средняя интенсивность сигнала для каждого нуклеотида, среднее значение фонового сигнала для каждого нуклеотида, отношение сигнала к шуму (SNR), перекрестные сигналы между нуклеотидами, процентное содержание гуанидина и цитозина в образце (GC%), количество прочтений.

- ♦ Файл онлайн-отчета *.html – включает в себя *.summary.html и *.cycHeat.html.
- *.summary.html – это файл с общей информацией, который представляет ключевые результаты анализа секвенирования в виде таблиц и графиков. Например, таблица на рисунке 48 иллюстрирует отчет о секвенировании, что позволяет быстро оценить основные метрики эксперимента.
- *.cycHeat.html – визуализационный файл, отображающий тепловую карту данных, связанных с полем оптического покрытия детектора (FOV). Он демонстрирует вариации интенсивности сигналов или качества данных по всему полю оптического покрытия, что помогает идентифицировать участки с проблемами качества секвенирования.

Таблица 1. Отчет о секвенировании

Измерения
Версия
Кол-во циклов
Кол-во ячеек
Общее кол-во прочтений (тыс.)
Кол-во прочтений на ячейку
Кол-во кластеров (мкм2)
Q30
Кол-во прочт. после фильтр. (тыс.)
Соотношение после фильтр. (%)
GC, %

Рисунок 48. Онлайн-отчет о секвенировании

Наименование	Функция
Версия	Номер версии модуля обработки изображений
Кол-во циклов	Общее количество циклов секвенирования, включая количество циклов секвенирования исходной и обратной цепи ДНК и длину индексов.
Кол-во ячеек	Ячейки – это область, которую охватывает камера секвенатора для сбора сигнала флуоресценции в определенный момент времени (FOV). Данный параметр обозначает количество таких областей, на которых были собраны данные флуоресценции.
Общее кол-во прочтений (тыс.)	Общее количество прочтений целевых фрагментов в пуле библиотек, тыс.
Кол-во прочтений на ячейку	Среднее количество прочтений, содержащихся в одной ячейке
Кол-во кластеров (мкм2)	Количество кластеров на квадратный микрон
Q30	Процент оснований с показателем качества Q30 или выше в выходном файле FastQ
Кол-во прочтений после фильтр. (тыс.)	Количество прочтений, содержащихся в выходном файле FastQ, тыс.

Наименование	Функция
Соотношение после фильтров. (%)	Отношение количества прочтений после фильтрации к общему количеству прочтений
GC (%)	Процентное соотношение G и C в целевых фрагментах ДНК

8.4.3 Автоматическая загрузка результатов секвенирования

Папка результатов секвенирования Results может быть автоматически выгружена на целевой сервер или компьютер после завершения секвенирования.

Процесс работы выглядит следующим образом:

- 1) Нажмите на значок  настроек в правом верхнем углу экрана, а затем выберите вкладку «Загрузить».
- 2) Включите автоматическую загрузку результатов секвенирования путем нажатия на переключатель «Автоматическая загрузка».
- 3) Выберите необходимый формат загружаемого файла.
- 4) Введите IP-адрес сервера или компьютера, введите имя пользователя и пароль для входа на FTP-сервер.
- 5) Нажмите на кнопку «Сохранить» и перезапустите программное обеспечение для вступления изменений в силу.

Примечание: Целевой сервер или компьютер должен быть открыт для соединения по FTP и настроен как FTP-сайт с фиксированным IP-адресом, именем пользователя и паролем для входа. Если необходимо настроить среду автоматической выгрузки, обратитесь в службу поддержки клиентов.

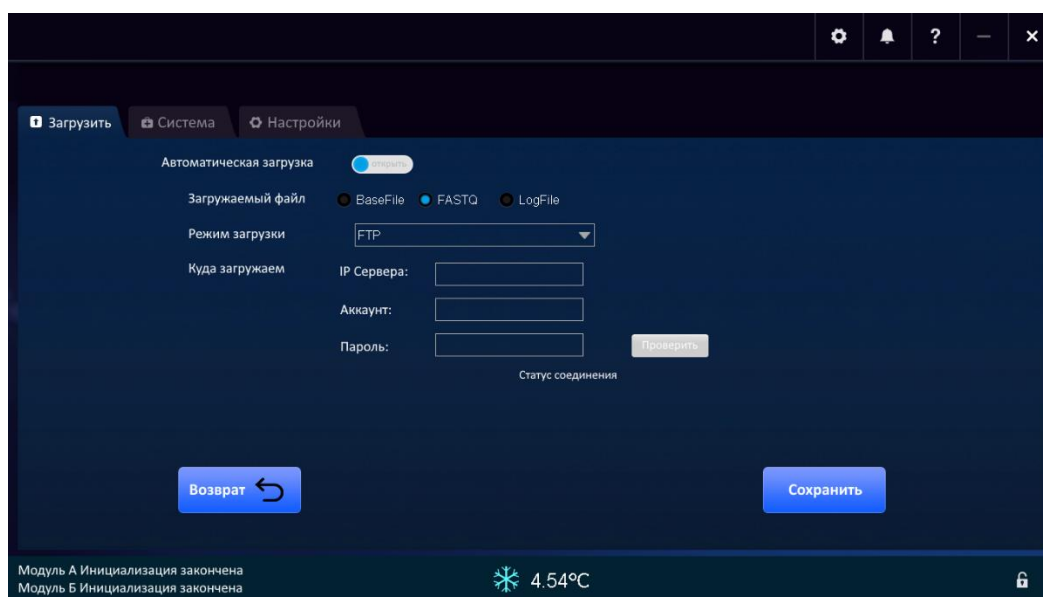


Рисунок 49. Экран автоматической загрузки результатов секвенирования

8.5 Другие настройки

8.5.1 Выбор языка

Управляющее программное обеспечение поддерживает выбор китайского, английского или русского языка для интерфейса. Нажмите на значок  настроек в правом верхнем углу экрана, а затем выберите вкладку «Настройки». Выберите язык интерфейса Русский. Нажмите на кнопку «Сохранить» и перезапустите программное обеспечение для вступления изменений в силу.

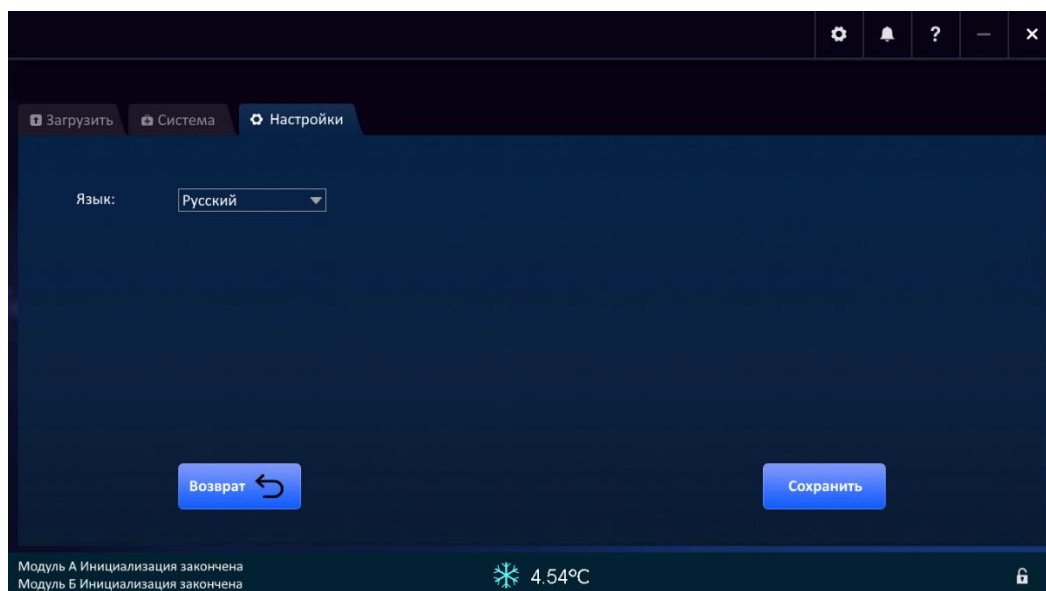


Рисунок 50. Экран настройки языка программного обеспечения

8.5.2 Справка

Нажмите на значок  в правом верхнем углу экрана, чтобы открыть интерфейс справки. Здесь можно ознакомиться с моделью прибора, версией программного обеспечения и другой справочной информацией.

8.6 Завершение работы системы

Если секвенатор не используется в течение длительного периода времени, рекомендуется его выключить. Выполните следующие процедуры:

- ♦ Извлеките промывочный картридж и закройте дверцу камеры с охлаждением.
- ♦ Выполните очистку системы подачи жидкости «одной кнопкой»: нажмите на значок  настроек в правом верхнем углу экрана дисплея, выберите вкладку «Система» и нажмите на кнопку «Очистить».

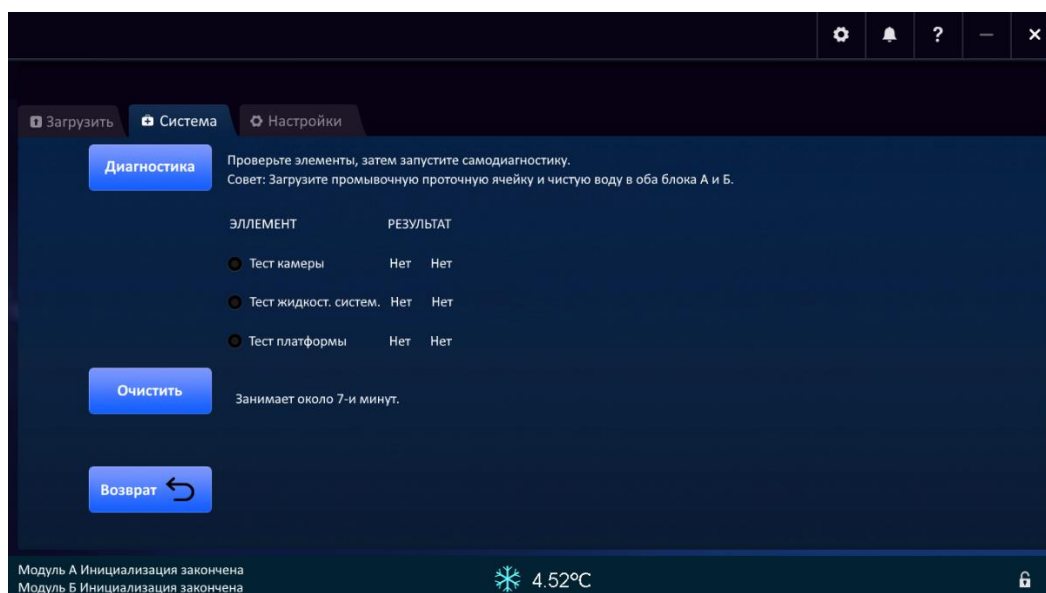


Рисунок 51. Экран «Система»

- ♦ Завершите работу управляющего программного обеспечения секвенатора.
- ♦ Выключите рабочую станцию секвенатора.

- ♦ Выключите секвенатор.
- ♦ Отсоедините все кабели питания.

Предупреждения

Перед повторным запуском прибора выполните следующие операции:

- ♦ Проверьте подключение кабелей питания и соединения между прибором и рабочей станцией.
- ♦ Очистите прибор и выполните промывку прибора.
- ♦ Создайте новую задачу по секвенированию после прогрева в течение более 2 ч.
- ♦ Каждый раз после выключения прибора подождите как минимум 60 секунд, прежде чем переключить выключатель питания обратно в положение «I». Программное обеспечение следует запускать еще через 3 минуты.

9 РЕМОНТ И ОБСЛУЖИВАНИЕ СЕКВЕНАТОРА

Техническое обслуживание секвенатора осуществляется квалифицированным представителем производителя не реже 1 раза в год.

Запуск оборудования осуществляется квалифицированным представителем производителя. Информация о монтаже, наладке, настройке и иных действиях, необходимых для ввода в эксплуатацию, предоставляется квалифицированным представителем производителя при запуске системы.

Для обеспечения нормальной работы секвенатора и продления срока его службы необходимо выполнять текущий ремонт и обслуживание.

Для обслуживания прибора необходимо использовать только компоненты, рекомендованные производителем. Неутвержденные компоненты могут повредить прибор или снизить его производительность.

Перед доставкой секвенатор проходит проверку качества. Если во время эксплуатации возникает серьезное отклонение, обратитесь в службу технической поддержки для калибровки прибора.

Если у вас есть вопросы по техническому обслуживанию, которые не упомянуты в данном руководстве, обратитесь в службу технической поддержки.

9.1 Требования по периодичности обслуживания

Виды мероприятий	Периодичность
Регулярная промывка	До и после каждого секвенирования
Профилактическая промывка	Один раз в месяц или если прибор находится в режиме ожидания более 7 дней
Обслуживание камеры с охлаждением	После каждого секвенирования
Завершение работы системы	По мере необходимости
Полная проверка прибора	Один раз в месяц
Влажная очистка пыленепроницаемого экрана	Раз в полгода
Проверка защиты от перегрева	Раз в год

9.2 Обслуживание системы подачи жидкости прибора

После каждого запуска секвенирования обязательно следует выполнять регулярную промывку прибора. Промывка системы подачи жидкости прибора гарантирует непрерывную производительность секвенатора благодаря следующему:

- ♦ Вымываются остатки реагентов в системе подачи жидкости и шприцевых насосах;
- ♦ Предотвращается накопление и кристаллизация солей в системе подачи жидкости и шприцевых насосах;
- ♦ Предотвращается перекрестное загрязнение от предыдущих запусков.

Периодичность промывки системы подачи жидкости и процедуры для запуска режимов промывки указаны в пп. 8.3.

9.3 Обслуживание камеры с охлаждением

После каждого секвенирования своевременно проверяйте наличие водного конденсата в камере с охлаждением. Если конденсат есть, удалите его безворсовой салфеткой или перезапустите программное обеспечение прибора, тогда конденсатный насос камеры с охлаждением запустится автоматически. Если конденсатный насос не запускается во время инициализации программного обеспечения, обратитесь в подразделение послепродажного обслуживания.

Предупреждения

- ♦ Следует принять меры по предотвращению попадания посторонних предметов во внутренний вентилятор охлаждения при очистке.

9.4 Обслуживание зажима проточной ячейки

- ♦ Перед настройкой каждого запуска секвенирования смочите бумагу для очистки линз небольшим количеством 96% этанола, после чего протрите область загрузки проточной ячейки, чтобы обеспечить отсутствие пыли, потеков и других пятен.
- ♦ Выполните осмотр и убедитесь в том, что в каждом входном и выходном отверстии коллекторов отсутствуют чужеродные объекты, а также удалите пыль и загрязнения (если они имеются) с помощью обеспыливающего средства.
- ♦ После того, как этанол испарится, установите проточную ячейку для секвенирования.

9.5 Обслуживание блока секвенирования и блока питания

- ♦ Если прибор не работает в течение длительного периода времени, необходимо выключить блок питания прибора и отсоединить кабель питания от сети.
- ♦ Перед каждым использованием прибора проверьте выключатель, кабель питания, разъем и гнездо на предмет ухудшения характеристик, повреждения или плохого контакта. Если кабели необходимо заменить, обратитесь в подразделение послепродажного обслуживания.
- ♦ Проверьте, нормально ли работает вентилятор охлаждения при включении питания. Если нет, то своевременно свяжитесь с подразделением послепродажного обслуживания.
- ♦ Очистите отверстие вокруг вентилятора от пыли с помощью небольшой щетки, чтобы обеспечить нормальное рассеивание тепла от прибора.
- ♦ Пылезащитный экран необходимо очищать не реже, чем раз в полгода. По соответствующим вопросам обращайтесь в отдел послепродажного обслуживания.
- ♦ Проверяйте устройство защиты от перегрева прибора не реже, чем раз в полгода. По соответствующим вопросам обращайтесь в отдел послепродажного обслуживания.

9.6 Обслуживание отсека для жидких отходов

- ♦ Убедитесь в том, что вспомогательный отсек для жидких отходов в приборе пуст, прежде чем запустить новый анализ.
- ♦ В отношении утилизации жидких отходов соблюдайте местные требования к лабораториям, законодательные и нормативные требования. Во избежание повреждения слизистой оболочки, кожи и глаз используйте средства индивидуальной защиты при обращении с отходами.

- ♦ Регулярно проверяйте стыки трубопровода для жидких отходов на предмет утечки жидких отходов, ослабления соединений, ухудшения характеристик и перегибов. При обнаружении проблем своевременно свяжитесь с подразделением послепродажного обслуживания.

9.7 Диагностика прибора

Проводится не реже одного раза в месяц. При выключенном питании выполните следующие операции по обслуживанию:

- ♦ Используйте безворсовую салфетку, смоченную в 75% этаноле, для протирания корпуса прибора (включая сенсорный экран), чтобы удалить остатки образцов и реагентов с корпуса.
- ♦ Проверьте на предмет ослабления соединений или ошибочной установки переключателей, соединителей и разъемов прибора. При необходимости затяните соединения самостоятельно и установите переключатели в правильное положение.
- ♦ Проверьте контакт штепсельной вилки/гнезда на предмет окисления, ржавчины или плохого контакта по другой причине. При необходимости устраните дефект самостоятельно или обратитесь в подразделение послепродажного обслуживания.
- ♦ Проверьте кабель питания на предмет ухудшения характеристик. При необходимости замены обратитесь в подразделение послепродажного обслуживания.
- ♦ Выполните проверку системы рассеивания тепла и отходов на наличие чужеродных объектов или помех для выхода воздуха из вентилиционных отверстий.

Предупреждения

- ♦ Включайте питание прибора после естественного высыхания.
- ♦ Запрещается подключать и отсоединять соединительные кабели прибора и рабочей станции при включенном питании. При включенном питании выполните следующее обслуживание:
 - Включите секвенатор. Система выполнит самопроверку рабочего состояния некоторых устройств.
 - Регулярно создавайте резервные копии автономных данных секвенатора и очищайте жесткий диск рабочей станции.

10 РЕШЕНИЯ ПО УСТРАНЕНИЮ ТИПИЧНЫХ НАРУШЕНИЙ В РАБОТЕ ПРИБОРА

В этом разделе в основном представлены процедуры по выполнению операций при типичных нарушениях в работе прибора перед обращением в подразделение послепродажного обслуживания. При наличии других нарушений или отклонений в работе прибора, которые невозможно устранить, необходимо связаться с подразделением послепродажного обслуживания.

Предупреждения

- ♦ При решении проблем с отклонениями в работе прибора следует использовать средства индивидуальной защиты (такие как защитная лабораторная одежда, защитные очки, перчатки и т.д.), чтобы избежать повреждения кожи, слизистой оболочки и глаз.
- ♦ Перед запуском прибора убедитесь в том, что компоненты установлены правильно, в противном случае возможно получение травм.
- ♦ При попадании опасных материалов на поверхность или внутрь оборудования необходимо провести соответствующую обработку.
- ♦ Во избежание травм запрещается использовать моющие или дезинфицирующие средства, которые вступают в химическую реакцию с компонентами оборудования или материалами, содержащимися в оборудовании.
- ♦ При возникновении каких-либо вопросов о совместимости дезинфицирующего или моющего средства с компонентами оборудования или материалами, используемыми в оборудовании, свяжитесь с подразделением послепродажного обслуживания.

10.1 Проблемы при запуске прибора

Если прибор не запускается или не работает, проверьте его последовательно следующим образом:

- ♦ Убедитесь в том, что напряжение в розетке электропитания нормальное и обеспечиваемая мощность больше или равна 2000 ВА.
- ♦ Проверьте, включен ли выключатель питания прибора. Если нет, включите его.
- ♦ Проверьте плотность соединения между кабелем питания и розеткой и повторно подключите кабель питания, если оно неплотное.
- ♦ Проверьте, подключен ли кабель для передачи данных прибора и плотность его соединения, и повторно подключите кабель для передачи данных, если соединение кабеля неплотное.
- ♦ Проверьте, подключен ли сетевой кабель между прибором и рабочей станцией и плотность его соединения, и повторно подключите сетевой кабель, если соединение кабеля неплотное.
- ♦ Проверьте, соответствует ли номер порта подключения для передачи данных номеру порта на рабочей станции, и убедитесь в том, что они совпадают.

10.2 Проблемы при работе прибора

- 1) После инициализации индикатор состояния системы становится красным.
 - ♦ Нарушение связи между программным обеспечением и прибором.
 - ♦ Убедитесь в том, что прибор включен в течение 5 минут, после чего перезапустите программное обеспечение, чтобы проверить, работает ли прибор нормально.
- 2) На интерфейсе секвенирования появляется предупреждение «Емкость для отходов реагентов почти заполнена!».
 - ♦ Опорожните емкость для отходов реагентов.
- 3) Не удается прочитать QR-код проточной ячейки или картриджа.
 - ♦ Убедитесь в том, что QR-код этикетки находится достаточно близко к сканеру, а сканер можно переместить ближе к QR-коду этикетки.
 - ♦ Убедитесь в том, что окружающий свет достаточно яркий. Включите дополнительный свет, а затем снова выполните сканирование и считывание.
 - ♦ Если высота расположения сканера выходит за рамки диапазона, обратитесь в подразделение послепродажного обслуживания.
- 4) На интерфейсе секвенирования появляется предупреждение «Тревога: аномальная температура окружающей среды!».
 - ♦ Проверьте, не слишком ли высока температура в помещении, где находится прибор, и отрегулируйте температуру в помещении до +19–25 °C.
 - ♦ Проверьте, что на трех охлаждающих вентиляторах на боковой и задней панелях прибора нет чужеродных объектов. Если они есть, то после их удаления по очереди перезапустите прибор и программное обеспечение.
 - ♦ Проверьте, имеются ли явные препятствия на расстоянии 40 см от боковой и задней панелей прибора.
- 5) На интерфейсе секвенирования появляется предупреждение «Аномальная температура камеры с охлаждением!».
 - ♦ Убедитесь в том, что дверца камеры с охлаждением плотно закрыта.
- 6) На интерфейсе секвенирования появляется предупреждение «Тревога: аномальная температура проточной ячейки!».
 - ♦ Откройте дверцу отсека для проточной ячейки, чтобы проверить, нет ли вокруг проточной ячейки посторонних веществ, и наблюдайте, возвращается ли температура проточной ячейки к норме после очистки.
- 7) Компьютер автоматически перезагружается во время секвенирования
 - ♦ Отключите функцию автоматического обновления и перезагрузки операционной системы.
 - ♦ Извлеките внешние устройства, не указанные изготовителем.
- 8) Синий экран во время секвенирования
 - ♦ Перезагрузите рабочую станцию.
 - ♦ Не используйте внешние устройства, не указанные изготовителем.

- 9) Аномальное завершение работы программного обеспечения для секвенирования
- ♦ Перезапустите программное обеспечение, чтобы проверить, повторяется ли проблема.
- 10) Недостаточно места на жестком диске
- ♦ Вручную удалите ненужные файлы из каталога для освобождения требуемого дискового пространства, указанного в отображаемом сообщении.
- 11) Другие нарушения
- ♦ Свяжитесь с подразделением послепродажного обслуживания.

10.3 Типичные проблемы при эксплуатации

При ошибке запуска:

- ♦ Проверьте, проточную ячейку на отсутствие дефектов и загрязнений;
- ♦ Проверьте, нет ли повреждений у картриджа;
- ♦ Проверьте разморожены ли полностью реагенты в картридже;
- ♦ Свяжитесь с подразделением послепродажного обслуживания.

10.4 Решения по устранению типичных проблем

Сбои	Анализ причин нарушений	Способ решения
Прибор не включается	Кабель питания может быть отсоединен, а переключатель питания не включен.	Проверьте, правильно ли подключен кабель питания и включен ли переключатель питания.
Ошибка инициализации программного обеспечения	Не удастся инициализировать некоторые компоненты	Решите проблему в соответствии с информацией, отображаемой на экране.
Сообщение об ошибке при запуске программного обеспечения	Неправильные настройки параметров программного обеспечения Часть аппаратных соединений работает с отклонениями.	Проверьте настройки параметров программного обеспечения. Проверьте журнал и устраните неполадки с соответствующей неисправностью. Перезагрузите устройство.
Проблема с фокусировкой оптики	Сбой автофокусировки прибора	Замените проточную ячейку на ячейку с заведомо хорошим качеством изображения и выполните еще один снимок. Выполните настройку прибора в соответствии с результатом.
Нарушение герметичности системы подачи жидкости	Соединительный блок неисправен	Проверьте соединительный блок на наличие дефектов.
	Соединительный блок застрял	Нажмите на соединительный блок, чтобы убедиться в том, что он нормально двигается.
	Система подачи жидкости загрязнена	Посмотрите, заполнены ли жидкостью 4 шприцевых насоса во время обычной промывки.

Остановка секвенирования	Наблюдается серьезное отклонение. Если продолжить процесс, то это может привести к повреждению.	Решите проблему в соответствии с указаниями.
Недостаточно места для хранения	Недостаточно места на диске	Удалите лишние файлы и очистите корзину.
Смещение отображения	Отклонение параметров разрешения	Переустановите разрешение на 1366 * 768 или установите низкое разрешение, а затем переустановите на 1366 * 768.

11 ТРЕБОВАНИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ, ЭКСПЛУАТАЦИИ И УТИЛИЗАЦИИ

11.1 Требования хранения и транспортирования секвенатора до ввода в эксплуатацию

Транспортирование и хранение секвенатора должно производиться в следующих условиях:

- ♦ температура окружающей среды должна находиться в диапазоне от -10 °С до +50 °С
- ♦ относительная влажность должна находиться в диапазоне от 15 до 85% (без образования конденсата)
- ♦ атмосферное давление должно находиться в диапазоне от 70 кПа до 106 кПа.

11.2 Требования к эксплуатации секвенатора

Секвенатор должен применяться в условиях, соответствующих пп. 7.3, 7.5 руководства по эксплуатации.

Назначенный срок службы секвенатора – 5 лет. По истечении данного периода квалифицированный персонал, уполномоченный ООО «Сесана», может принять решение о продолжении эксплуатации.

11.3 Требования утилизации секвенатора

Утилизация секвенатора должна проводиться специализированными службами согласно правилам и нормам ГОСТ Р 55102.

В случае прекращения эксплуатации секвенатор не представляет биологической опасности и не несет экологических и физических рисков.

11.4 Требования хранения компонентов стартового набора

Картриджи необходимо хранить при температуре от -30 °С до -15 °С в упаковке предприятия-изготовителя в течение всего срока годности (12 месяцев).

Проточные ячейки необходимо хранить при температуре от +2 °С до +8 °С в упаковке предприятия-изготовителя в течение всего срока годности (12 месяцев).

Буфер для гибридизации необходимо хранить при температуре от +10 °С до +30 °С в упаковке предприятия-изготовителя в течение всего срока годности (12 месяцев).

Компоненты стартового набора, хранившиеся с нарушением регламентированного режима, применению не подлежат.

11.5 Требования транспортирования компонентов стартового набора

Транспортирование стартового набора должно производиться крытым транспортом (автомобильным, железнодорожным либо воздушным) в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида.

Картриджи необходимо транспортировать при температуре от -30°C до -15°C в транспортной упаковке.

Проточные ячейки необходимо транспортировать при температуре от $+2^{\circ}\text{C}$ до $+8^{\circ}\text{C}$ в транспортной упаковке.

Буфер для гибридизации необходимо транспортировать при температуре от $+10^{\circ}\text{C}$ до $+30^{\circ}\text{C}$ в транспортной упаковке.

Компоненты стартового набора, транспортированные с нарушением температурного режима, применению не подлежат.

11.6 Требования к эксплуатации компонентов стартового набора

Монтаж, настройка, калибровка компонентов стартового набора для ввода в эксплуатацию не требуется.

Компоненты стартового набора должны применяться согласно руководству по эксплуатации, утвержденной в установленном порядке. В процессе работы необходимо соблюдать меры предосторожности, указанные в пп. 7.7.

Компоненты стартового набора должны использоваться в следующих условиях: температура в помещении лаборатории от $+19^{\circ}\text{C}$ до $+22^{\circ}\text{C}$, относительная влажность от 20 до 70%.

Время использования проточных ячеек – 12 часов после помещения на комнатную температуру.

Время использования буфера для гибридизации – 12 часов после вскрытия флакона.

Время использования картриджей – 24 часа после размораживания в условиях хранения при температуре от $+2^{\circ}\text{C}$ до $+8^{\circ}\text{C}$. Повторное замораживание не допускается.

Срок годности компонентов стартового набора – 12 месяцев с даты изготовления. Не применять компоненты стартового набора с истекшим сроком годности.

11.7 Требования утилизации компонентов стартового набора

Компоненты стартового набора, пришедшие в непригодность, в том числе в связи с истечением срока годности, подлежат утилизации как медицинские отходы класса А в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684.

Использованные в ходе выполнения работ пробирки и компоненты стартового набора дезинфицируют и утилизируют как медицинские отходы класса Б в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684.

Персонал, осуществляющий уничтожение компонентов стартового набора, должен соблюдать правила безопасности проведения того или иного способа уничтожения.

12 ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

Производитель гарантирует соответствие секвенатора требованиям ТУ 26.51.53-004-95224908-2020 и конструкторской документации при соблюдении правил монтажа, эксплуатации, транспортирования и хранения.

Гарантийный срок эксплуатации – 12 месяцев со дня ввода в эксплуатацию авторизованным инженером.

Гарантийный срок хранения секвенатора – 24 месяца со дня производства.

Гарантированный срок годности компонентов стартового набора – 12 месяцев со дня производства.

Гарантийные обязательства не распространяются на:

- ◆ изделия, поврежденные в результате небрежности или неправильного применения;
- ◆ изделия, модифицированные любым способом без согласования с производителем.

Производитель не несет ответственности за прямой, косвенный, случайный или обусловленный ущерб, полученный в результате использования вышеуказанных изделий.

При выявлении нежелательных реакций, фактов и обстоятельств, создающих угрозу жизни и здоровью граждан и медицинских работников при обращении и эксплуатации секвенатора, рекомендуется направить сообщение по адресу, указанному выше, и в уполномоченную государственную регулирующую организацию в соответствии с действующим законодательством.

Приложение А

Структура библиотеки для секвенирования

Библиотеки для секвенирования готовятся с использованием зарегистрированного набора реагентов для приготовления библиотек, при этом структура полученной библиотеки должна соответствовать рисунку А1. Данная структура библиотеки идентична той, которая используется на секвенаторах MiSeq и NextSeq компании Illumina. Это обеспечивает совместимость наборов реагентов для приготовления библиотек, предназначенных для секвенаторов MiSeq и NextSeq, с секвенатором Геноскан 4000.

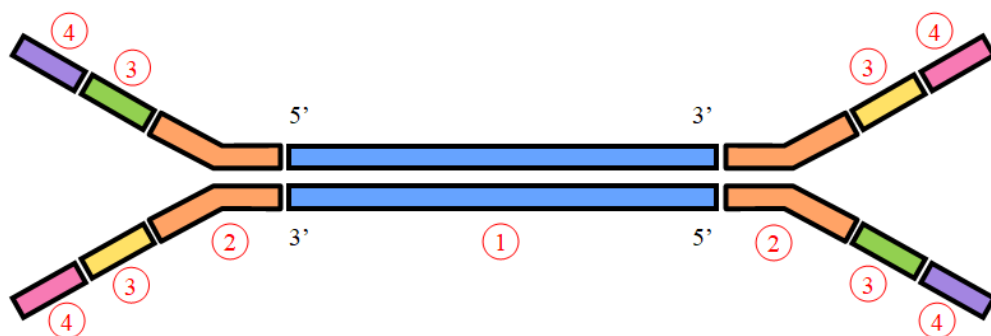


Рисунок А1. Структура библиотеки для секвенирования

Номер	Наименование	Описание
1	Целевой фрагмент ДНК	Длина определяется набором реагентов для приготовления библиотек.
2	Адаптер	Состоит из двух олигонуклеотидов, частично комплементарных друг другу, содержит участки связывания праймеров для секвенирования. Присутствует с обеих сторон целевого фрагмента.
3	Индекс	Последовательность нуклеотидов, позволяющая идентифицировать образцы. Присутствует с обеих сторон целевого фрагмента.
4	Последовательность нуклеотидов, комплементарная олигонуклеотидам на проточной ячейке	Отвечает за крепление библиотеки к проточной ячейке. Присутствует с обеих сторон целевого фрагмента.

Приложение Б
Индексные последовательности, совместимые с секвенатором

№	Индекс i7	Обратная комплементарная последовательность индекса i7		Индекс i5	Обратная комплементарная последовательность индекса i5	
1	CGAGTAAT	ATTACTCG		TATAGCCT	AGGCTATA	
2	TCTCCGGA	TCCGGAGA		ATAGAGGC	GCCTCTAT	
3	AATGAGCG	CGCTCATT		CCTATCCT	AGGATAGG	
4	GGAATCTC	GAGATTCC		GGCTCTGA	TCAGAGCC	
5	TTCTGAAT	ATTCAGAA		AGGCGAAG	CTTCGCCT	
6	ACGAATTC	GAATTCGT		TAATCTTA	TAAGATTA	
7	AGCTTCAG	CTGAAGCT		CAGGACGT	ACGTCCTG	
8	GCGCATTA	TAATGCGC		GTA CTGAC	GTCAGTAC	
9	CATAGCCG	CGGCTATG		TTCGGATG	CATCCGAA	
10	TTCGCGGA	TCCGCGAA		ACTCATAA	TTATGAGT	
11	GCGCGAGA	TCTGCGGC		GCGCCTCT	AGAGGCGC	
12	CTATCGCT	AGCGATAG		CGCGGCTA	TAGCCGCG	
13	CTGTGTTG	CAACACAG		TTATTCGT	ACGAATAA	
14	TGAGGTGT	ACACCTCA		CCTACGAA	TTCGTAGG	
15	CCTATGGT	ACCATAGG		AGCAGATC	GATCTGCT	
16	CTTACCTG	CAGGTAAG		GCGGAGCG	CGCTCCGC	
17	TGTGCGTT	AACGCACA		TACTTACT	AGTAAGTA	
18	CGAGACTA	TAGTCTCG		AGGAAGTC	GACTTCCT	
19	TGTGACTG	CAGTCACA		GGCGACGG	CCGTCGCC	
20	AGTGTTGG	CCAACACT		CCTCGGAC	GTCCGAGG	
21	TGGCATGT	ACATGCCA				
22	AGCGGAAT	ATTCCGCT				
23	GTACCTTG	CAAGGTAC				
24	GTTCATGG	CCATGAAC				

Приложение В

Структура FASTQ файла

Документ FASTQ использует четыре строки на каждую последовательность библиотеки ДНК:

- ♦ Строка 1 начинается с символа «@», за ней следует идентификатор последовательности и необязательное описание (например, строка заголовка [FASTA](#)).
- ♦ Строка 2 — это необработанные символы последовательности.
- ♦ Строка 3 начинается с символа «+» и является необязательной, после чего снова следует тот же идентификатор последовательности (и любое описание).
- ♦ Строка 4 кодирует значения качества для последовательности в строке 2 и должна содержать то же количество символов, что и строка последовательности.

Пример:

```
@SEQ_ID
GATTTGGGGTTCAAAGCAGTATCGATCAAATAGTAAATCCATTTGTTCAACTCACAGTTT
+
!*(((((***+))%%%+))(%%%%).1***_+*)**55CCF>>>>>CCCCCCC65
```

Приложение Г

Символы и обозначения

Графические символы	Название	Графические символы	Название
	Изготовитель		Запрет на повторное применение
	Дата изготовления		Внимание. Опасность
	Использовать до		Биологический риск
	Код партии		Опасность поражения электрическим током
	Серийный номер		Осторожно. Горячая поверхность
	Хрупкое, обращаться осторожно		Осторожно. Возможно травмирование рук
	Верх		Заземление
	Не кантовать		Защитное заземление
	Штабелировать запрещается		Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Температурный диапазон		По окончании срока службы изделие должно быть утилизировано
	Диапазон влажности		Диапазон атмосферного давления
	Не допускать воздействия солнечного света		Не допускать воздействия влаги
	Обратитесь к инструкции по применению или к инструкции по применению в электронном виде		Осторожно

Приложение Д

Перечень ссылочных нормативных документов

Обозначение	Наименование
Приказ Минздрава России № 4н от 06.06.2012 г.	Об утверждении номенклатурной классификации медицинских изделий
СанПиН 2.1.3684-21	Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий.
СанПиН 2.2.4.3359-16	Санитарно-эпидемиологические требования к физическим факторам на рабочих местах
ГОСТ IEC 62304-2022	Изделия медицинские. Программное обеспечение. Процессы жизненного цикла
ГОСТ Р 51318.11-2006	Совместимость технических средств электромагнитная. Промышленные, научные, медицинские и бытовые (ПНМБ) высокочастотные устройства. Радиопомехи индустриальные. Нормы и методы измерений.
ГОСТ Р МЭК 61326-1-2014	Оборудование электрическое для измерения, управления и лабораторного применения. Требования электромагнитной совместимости. Часть 1. Общие требования.
ГОСТ 30804.4.11-2013	Совместимость технических средств электромагнитная. Устойчивость к провалам, кратковременным прерываниям и изменениям напряжения электропитания. Требования и методы испытаний.
ГОСТ IEC 61010-1-2014	Безопасность электрических контрольно-измерительных приборов и лабораторного оборудования. Часть 1. Общие требования.
ГОСТ IEC 61010-2-081-2013	Безопасность электрических контрольно-измерительных приборов и лабораторного оборудования. Часть 2-081. Частные требования к автоматическому и полуавтоматическому лабораторному оборудованию для проведения анализов и других целей.
ГОСТ IEC 61010-2-101-2013	Безопасность электрических контрольно-измерительных приборов и лабораторного оборудования. Часть 2-101. Частные требования к медицинскому оборудованию для лабораторной диагностики (IVD)». Испытание электробезопасности проводилось в соответствии с ГОСТ IEC 61010-1-2014 и ГОСТ IEC 61010-2-101-2013.
ГОСТ 12.4.026-2015	Система стандартов безопасности труда. Цвета сигнальные, знаки безопасности и разметка сигнальная. Назначение и правила применения. Общие технические требования и характеристики. Методы испытаний.
ГОСТ Р 55102-2012	Ресурсосбережение. Обращение с отходами. Руководство по безопасному сбору, хранению, транспортированию и разборке отработавшего электротехнического и электронного оборудования, за исключением ртутьсодержащих устройств и приборов.
ГОСТ 14254-2015	Степени защиты, обеспечиваемые оболочками (Код IP)

Контактная информация сервисных центров

Сервисный центр Диаэм в Москве:

Адрес: 129345, г. Москва, ул. Магаданская, д.7, стр.3

Тел.: +7 (495) 745-05-08 (многоканальный), 8 (800) 234-05-08

E-mail: service@dia-m.ru

www.dia-m.ru

Сервисный центр Диаэм в Новосибирске:

Адрес: 630090 г. Новосибирск, Академгородок, ул. Инженерная 16, подъезд 7, этаж 1

Тел.: +7 (495) 745-05-08 (многоканальный), 8 (800) 234-05-08

E-mail: service@dia-m.ru

www.dia-m.ru

Сервисный центр Диаэм в Казани:

Адрес: 420111, Казань, ул. Профсоюзная, д.40-42, пом. № 8 Тел.: +7

(495) 745-05-08 (многоканальный), 8 (800) 234-05-08

E-mail: service@dia-m.ru

www.dia-m.ru

Сервисный центр Диаэм в Санкт-Петербурге:

Адрес: 197022, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 23, лит. Д, офис 614 (БЦ «Гайот»)

Тел.: +7 (495) 745-05-08 (многоканальный), 8 (800) 234-05-08

E-mail: service@dia-m.ru

www.dia-m.ru

Диаэм, Москва ■ ул. Магаданская, д. 7, к. 3 ■ тел./факс: 8 (800) 234-0508 ■ sales@dia-m.ru



С.-Петербург
spb@dia-m.ru

Новосибирск
nsk@dia-m.ru

Воронеж
vrn@dia-m.ru

Йошкар-Ола
nba@dia-m.ru

Красноярск
krsk@dia-m.ru

Казань
kazan@dia-m.ru

Ростов-на-Дону
rnd@dia-m.ru

Екатеринбург
ekb@dia-m.ru

Кемерово
kemerovo@dia-m.ru

Нижний Новгород
nnovgorod@dia-m.ru

мобильное приложение



www.dia-m.ru